

1 CIENCIA Y CULTURA elementos

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

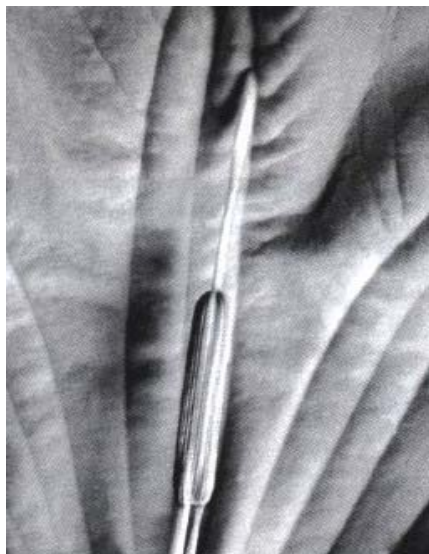
No.49 Vol.10 marzo-mayo 2003 \$25.00



06-06-2003

La microbiología e **E. Baca** El mal de Chagas **Imbert, Figueroa, Gómez**

Los micoplasmas y el SIDA **M. L. Cedillo, J. A. Yáñez** El virus de la inmunodeficiencia humana **A. Ruiz-Argüelles** La lepra en Europa medieval **E. Soto Pérez de Celis**



© Patricia Lagarde, de la serie *Herbolaria*.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
rector, Enrique Doger Guerrero
secretario general, Guillermo Nares Rodríguez
vicerrector de Investigación y Estudios de
Posgrado, Pedro Hugo Hernández Tejeda

ELEMENTOS
www.elementos.buap.mx
revista trimestral de ciencia y cultura
número 49, volumen 10, marzo-mayo 2003
director, Enrique Soto Eguibar
subdirector, Marcelo Gauchat
consejo editorial, Beatriz Eugenia Baca, María de la
Paz Elizalde, Enrique González Vergara, Francisco
Pellicer Graham, Leticia Quintero Cortés, José Emilio
Salceda, Raúl Serrano Lizaola, Enrique Soto Eguibar
Cristóbal Tabares Muñoz, Gerardo Torres del Castillo
edición, Marcelo Gauchat,
José Emilio Salceda, Enrique Soto Eguibar
asistente, María del Refugio Álvarez Tlachi
diseño y edición gráfica, Jorge López Vela
portada e interiores
Patricia Lagarde
impresión, Lithoimpresora Portales S.A. de C.V.
redacción, 14 Sur 6301, Ciudad Universitaria,
Apartado Postal 406, Puebla, Pue., C.P. 72570
e mail: elemento@siu.buap.mx
Revista registrada en Latindex y miembro de la
Federación Iberoamericana de Revistas Culturales.
Certificados de licitud de título y contenido 8148 y 5770.
ISSN 0187-9073

S U M A R I O

La microbiología 3

De sus inicios a la genómica

Beatriz Eugenia **Baca**

Tripanosomiasis americana 12

o “mal de Chagas”

José L. **Imbert P.**, Ana H. **Figueroa G.**, Juan V. **Gómez G.**

Los micoplasmas y el SIDA 23

María Lilia **Cedillo Ramírez**, Jorge Antonio **Yáñez Santos**

El virus de la inmunodeficiencia humana 31

Alejandro **Ruiz-Argüelles**

La lepra en Europa medieval 39

El nacimiento de un mito

Enrique **Soto Pérez de Celis**

Bacterias acéticas: diversidad e interacción con las plantas 47

L. E. **Fuentes R.**, A. **Tapia H.**, T. **Jiménez S.**, M. Á. **Mascarúa E.**,

Y. **Santoyo P.**, L. R. **Caso V.**, H. T. **Romero H.**, M. del R. **Cajica E.**,

D. **León B.**, M. **Rosales P.**, P. **Füguemann M.** y M. G. **Castillo R.**

Caracterización molecular de aislados de *sclerotium cepivorum* 53

F. **Luna Martínez**, A. **Flores Martínez**, P. **Ponce Noyola**

Libros 60



© Patricia Lagarde, de la serie *Herbolaria*.



© Patricia Lagarde, de la serie *De la clasificación de los seres*.

La microbiología

De sus inicios a la genómica

Beatriz Eugenia
Baca

HISTORIA

Las primeras observaciones con relación a las causas de la enfermedad datan del siglo XIII, cuando Roger Bacon postuló que la enfermedad era producida por “criaturas invisibles”. Más tarde Fracastoro de Verona (1483-1553) postuló que los gérmenes eran transmitidos de una persona a otra. En 1658 el monje Kircher reconoció el significado de los microbios en la enfermedad llamándolos “gusanos invisibles”. Von Plenciz, en 1762, propuso que diferentes gérmenes producen diferentes enfermedades; sin embargo esos hombres no presentaron prueba alguna de sus aseveraciones.

Anthony van Leeuwenhoek, nacido en Delft, Holanda, en 1632, al construir microscopios con lentes de aumentos entre 200 a 300, logró la observación directa de los microorganismos, que reportó cuidadosamente con dibujos que aún ahora es fácil reconocer. Si bien el estudio de los microbios se inició en el siglo XIX, principalmente en un contexto médico, sus reportes exactos de la ubicuidad de los microorganismos facilitaron a los posteriores microbiólogos de la “Edad de oro de la microbiología”, 200 años más tarde, el descubrimiento de su asociación con la enfermedad infecciosa, su implicación en la reacciones de fermentación, la producción de compuestos para combatir las infecciones, entre otros aspectos.

Los primeros estudios de Pasteur (1822-1895) se relacionan con la producción de vino, en la ciudad de Lille; estaba convencido de que la fermentación es un proceso biológico en donde intervenían “fermentos”, como él llamó a las cosas vivas que observaba en el microscopio. Los vinicultores tenían serios problemas con la fermentación perjudicial del vino. El análisis de los toneles de vino le permitió demostrar que la acidez, neutralidad o alcalinidad del medio, tenía un efecto profundo en la actividad de los diversos fermentos. Encontró

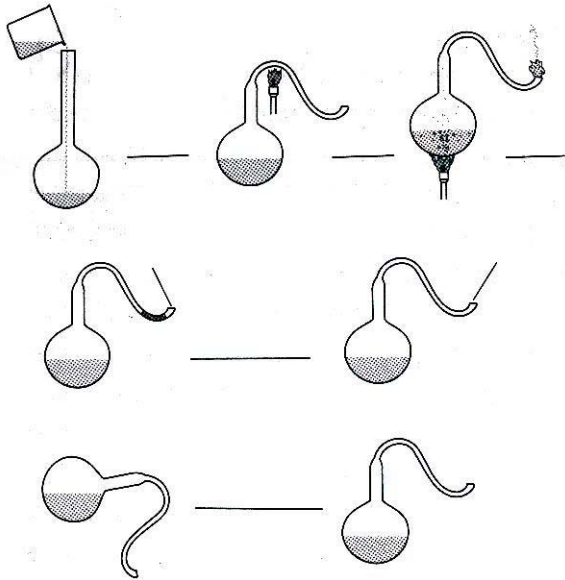


FIGURA 1. Experimento de Pasteur del matraz "cuello de cisne". Un matraz de cuello alto con medio de cultivo fue doblado por calor y esterilizado. Lo mantuvo sin colocarle un tapón y el matraz permaneció por varias semanas sin crecimiento de microorganismos, siempre y cuando permaneciera vertical. Si el matraz era inclinado el polvo con los gérmenes caía al medio y se observaba el crecimiento de los microorganismos del polvo.

que en la fermentación alterada del vino estaban presentes otros fermentos diferentes a la levadura, que producían alcohol isoamílico, lo que le daba al vino un sabor desagradable. Cuando se cuidó la fermentación con un inóculo libre de contaminantes la producción del vino mejoró. Como un corolario de este trabajo se interesó en estudiar y cuestionar el dogma de la "generación espontánea".

A su regreso a París inició sus experimentos sobre el tema. En esa época las opiniones científicas se dividían entre las que consideraban que los microorganismos se originaban espontáneamente en materiales fermentables y putrefactos, y aceptaban que la vida se creaba continuamente a partir de materia inerte por "generación espontánea", y las que sostenían que la vida deriva de "cosas vivas" con características similares. De forma relativamente sencilla, Pasteur demostró que el desarrollo de un microorganismo ocurre sólo si existen microorganismos preexistentes; para lo cual diseñó un matraz especial (figura 1). Como resultado de sus observaciones formuló la teoría de los gérmenes: la fermentación y putrefacción son causadas por microorganismos que son ubicuos. Constató que la vida microbiana no aparece en un medio que ha sido esterilizado y protegido de contaminación posterior. Los microorganismos no emergen del material en descomposición, sino que vienen del exterior; un líquido estéril expuesto al aire



estéril permanecerá estéril. Como resultado de estos conocimientos desarrolló técnicas de destrucción de microorganismos como la pasteurización, la cual consiste en esterilizar varias veces a temperaturas altas y por tiempos cortos.

Pero quizás los estudios que más notoriedad le dieron, fueron los relacionados con la infección. Para cultivar el agente causal de la enfermedad concibió la idea de inocular tejidos de animales de experimentación, en lugar de soluciones estériles; el concepto de selectividad de condiciones de cultivo fue simplemente cambiar medio de cultivo por células receptoras. En estas condiciones aisló el bacilo que provoca el cólera de las gallinas, lo mantuvo en el laboratorio durante un verano, al cabo del cual inoculó a un lote de gallinas con este bacilo; sorprendentemente las gallinas no murieron. Pero si los animales eran inoculados con un bacilo recién aislado de las gallinas enfermas de cólera, éstas morían; si inoculaba a las gallinas previamente inyectadas con "el bacilo atenuado", y posteriormente con un bacilo aislado de animales con cólera, las gallinas no presentaban la enfermedad y sobrevivían al cólera. Posteriormente obtuvo también el bacilo del ántrax atenuado, y desarrolló una vacuna, la cual comenzó a ser aplicada al ganado bovino y caprino en mayo de 1888. Continuó con los ensayos de vacunación con el agente causal de la rabia. La primera fase de esas investigaciones las realizó utilizando la espina dorsal de conejos muertos por rabia, y expuesta por dos semanas al aire estéril, ésta podría ser escasamente virulenta. Posteriormente inoculó a perros con la espina dorsal cada vez menos atenuada y logró finalmente proteger a los animales de la enfermedad.

Otro de los científicos que, junto con Pasteur, puede ser considerado uno de los padres de la microbiología, fue Robert Koch (1843-1910). El ántrax era una enfermedad importante que aquejaba a animales domésticos y que ocasionalmente afectaba a la gente. Koch inició sus investigaciones como un pasatiempo, sin imaginar que llegarían a ser un modelo para el estudio de la naturaleza bacteriana en su relación con la enfermedad infecciosa. Sus análisis microscópicos de muestras de sangre de ovejas infectadas le permitieron descubrir el agente causal de la enfermedad, describiéndolo como un bacilo grande que presentaba puntos translúcidos (que posteriormente identificó como esporas, *dauersporum*). Con este material inoculó conejos en la oreja; el animal murió luego de 24 horas. Empleó el humor



del ojo del animal como un medio de cultivo artificial para hacer crecer la bacteria, obteniendo, así, un cultivo puro del microorganismo que llamó *Bacillus anthracis*; esto implicaba que el ántrax era causado por un organismo específico.

Otra de sus importantes contribuciones fue la adaptación exitosa al microscopio del condensador descrito por Abbe (que permite obtener una iluminación óptima a lo largo del eje del microscopio), los lentes de inmersión con aceite y las tinciones de las preparaciones para la observación de las bacterias. La técnica del frotis que se usa actualmente difiere muy poco de la descrita por Koch; esta técnica la usó durante sus investigaciones y descubrimiento del agente causal del cólera. Sus detallados experimentos sobre el uso de colorantes y métodos de tinción fueron el fundamento para su trascendental descubrimiento del bacilo de la tuberculosis. Quizás la mayor contribución al desarrollo de la bacteriología y la microbiología como ciencias independientes fue la introducción de la técnica de cultivo puro empleando un medio sólido (placa de Koch). Esto posibilitó que otros investigadores aislaran y caracterizaran los microorganismos causales de casi todas las enfermedades infecciosas. La técnica también se empleó para valorar el número y clase de microorganismos presentes en muestras ambientales: aire, suelo, alimentos y objetos manufacturados. Por el éxito de sus investigaciones le fue otorgado un puesto de investigador en la Oficina Imperial de Salud, en Berlín, donde trabajó en compañía de Friedrich Loeffler (1852-1915), descubridor de la bacteria *Corynebacterium diphtheriae*, germen causal de la difteria, Georg Gaffky (1850-1918), y Bernhard Proskauer (1851-1915).

DESCUBRIMIENTO DEL BACILO DE LA TUBERCULOSIS

Al tiempo que Koch inició sus investigaciones, una séptima parte de la muertes reportadas se atribuían a la tuberculosis, y si se consideraba la etapa productiva, esta cifra alcanzaba un tercio de la población económicamente activa. Ocho meses después de haber iniciado sus experimentos, Koch reportó el aislamiento de la bacteria, la técnica de la tinción fue la llave que abrió la puerta para del misterio de la enfermedad. Una vez que el bacilo se demostró fácilmente en los tejidos infectados, la microscopía se usó para seguir las inoculaciones experimentales y como ayuda en el análisis de los cultivos. Posteriormente, el procedimiento de tinción fue mejorado por

Franz Ziehl (1857-1926) y Friedrich Neelsen (1854-1894), convirtiéndose en una herramienta diagnóstica invaluable. La parte crítica de las investigaciones sobre la tuberculosis –la prueba de que el cultivo puro obtenido del material tuberculoso causaba la enfermedad–, la realizó en cobayos, animales que son susceptibles de padecer la enfermedad. Debemos considerar estos trabajos de Koch como la base para sus famosos postulados sobre los agentes causales de la infección. Años más tarde continuó con el estudio del agente causal del cólera, epidemia que afectaba de tiempo en tiempo a la población europea. Debido al fracaso de los estudios de inoculación del bacilo del cólera a los animales, Koch se interesó en explorar aspectos epidemiológicos, los cuales aportaron la evidencia faltante que apoyó la tesis del agente causal del cólera, el *Vibrio cholerae*, y dieron datos sobre el vehículo por medio del cual el patógeno es llevado al humano –el agua. Usando el cultivo y aislamiento del vibrio a partir de contenedores de agua en la India, los estudios de Koch demostraron claramente que el cólera era una enfermedad contagiosa cuya diseminación podría controlarse por medio de medidas que evitan el uso de el agua contaminada.

El estudio de los microorganismos ha contribuido a fines muy importantes y quizás menos obvios. Su relativa simplicidad y, en algunos casos, la rapidez de crecimiento y reproducción, los hace modelos experimentales idóneos para el estudio de los intrincados procesos de funcionamiento de la célula. Muchos científicos han recibido el premio Nobel por sus aportaciones en la fisiología, genética y metabolismo microbiano. Publicados en 1946 por Avery, McCarty y MacLeod, los experimentos de transformación bacteriana con el neumococo demostraron que el material genético de la herencia es el DNA. La predicción del modelo de Watson y Crick de la replicación semiconservativa del DNA fue determinado en la bacteria *Escherichia coli* por Messelson y Stahl. Fue la bioquímica microbiana la que contribuyó a la apreciación que tenemos de la unidad de la bioquímica de la célula. Los sistemas bacterianos fueron el punto de partida para la descripción del ácido ribonucleico que lleva el mensaje genético (RNA_m), la solución del código genético, y el discernimiento de los procesos que regulan la expresión genética por Jacob y Monod. La noción de los virus latentes y el concepto de la transferencia horizontal (la transferencia de genes entre las bacterias mediada por plásmidos), fueron desarrollados principalmente en sistemas bacterianos.

TABLA 1. PRODUCTOS DE MICROORGANISMOS DE INTERÉS INDUSTRIAL, ALIMENTICIO Y TERAPÉUTICO.

MICROORGANISMO	PRODUCTO	Uso
HONGOS		
<i>Ashbya gossypii</i>	Riboflavina	Vitamina. Farmacéutico
<i>Aspergillus terreus</i>	Lovastatina	Inhibidor enzimático. Farmacéutico
<i>Cephalosporium</i> spp	Cefalosporina	Antibiótico. Farmacéutico
<i>Eremothecium asbyii</i>	Riboflavina B ₂	Vitamina. Farmacéutico
<i>Penicillium notatum</i>	Penicilina	Antibiótico. Farmacéutico
<i>Taxomyces andreanae</i>	Taxol	Anticancerígeno. Farmacéutico
<i>Gibberella fujikuroi</i>	Fitorreguladores	Agricultura
<i>Aspergillus niger</i>	Ácido cítrico	Industria alimenticia y farmacéutica
<i>Saccaromyces cerevisiae</i>	Etanol	Industrial
BACTERIAS		
<i>Corynebacterium</i> spp	Ácido glutámico	Industria alimenticia y farmacéutica
<i>Lactobacillus lactis</i>	Cianocobalamina B ₁₂	Vitamina. Farmacéutico
<i>Pseudomonas denitrificans</i>	Cianocobalamina B ₁₂	Vitamina. Farmacéutico
<i>Streptomyces griseus</i>	Estreptomicina y Cianocobalamina B ₁₂	Antibiótico y Vitamina. Farmacéutico
<i>Serratia marcescens</i>	Biotina B ₆	Vitamina. Farmacéutico
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Tóxicas	Insecticidas. Agricultura
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	Solventes acetona , butanol	Industrial

MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL

Desde los primeros años de la investigación sistemática de los microorganismos se tuvo conciencia de su enorme potencial de uso. Los microorganismos son ampliamente utilizados en la industria (tabla 1), entre otras razones, por la enorme variedad de reacciones que son capaces de realizar, por la posibilidad de adaptarse a varios ambientes, desde el matraz hasta el fermentador a gran escala, y bajo diferentes condiciones de cultivo. La manipulación genética y ambiental relativamente fácil posibilita el aumento de productividad; la capacidad de sintetizar enantiómeros específicos, en los casos en donde la síntesis química convencional desarrolla una mezcla de enantiómeros activos e inactivos. En algunos casos la velocidad de duplicación en tiempos cortos y la captación de nutrientes a tasas elevadas, les permiten mantener elevadas velocidades de metabolismo.

En el pasado, los microbiólogos desarrollaron programas de investigación para mejorar la producción de un compuesto dado, modificando las condiciones de cultivo, obteniendo mutantes, o bien, actualmente, usando la metodología de DNA recombinante. Estas técnicas han ayudado a mejorar significativamente la producción de un metabolito determinado. Por ejemplo, una cepa modificada de *Pseudo-*

monas denitrificans produce 100,000 veces más de la vitamina B12. La cepa Oxford original de *Penicillium notatum*, produce 5 mg/L de penicilina, actualmente se emplean cepas que sintetizan hasta 60 g/L. *Zimomonas mobilis* sintetiza 10-12% (V/V) de etanol en un medio óptimo, en cinco días de crecimiento. Una cepa modificada de *E. coli* que porta los genes de la piruvato descarboxilasa y la alcohol deshidrogenasa de *Z. mobilis* sintetiza el 95% (V/V) de etanol en sólo 18 horas. Otra estrategia empleada es alterar los procesos de regulación normales de la biosíntesis de un metabolito, como ocurre en *Serratia marcescens*, cuya biosíntesis de la biotina es reprimida por la 5 adenilato biotina; una cepa modificada que no responde al mecanismo represor es capaz de producir hasta 600mg/L de biotina. Esta producción es competitiva frente a la producción por vía química.

Las plantas han sido una fuente privilegiada de compuestos empleados en la terapéutica humana, el anticancerígeno taxol es una de estas sustancias, obtenido de la corteza del tejo y cuyo costo de producción asciende a 5,000-6,000 dl-USA/g. El desarrollo de una fuente microbiana para obtenerlo podría bajar considerablemente ese costo. Un programa exhaustivo de investigación sobre hongos endófitos (que se encuentran en el interior de la planta), aislados de los árboles productores del taxol, condujo al aislamiento de varios géneros de hongos que lo sintetizan; uno de ellos *Pestalotiopsis microspora* produce niveles de taxol significativos,



especialmente cuando inhibidores de la síntesis de esteroides se incorporan al medio de crecimiento, cambiando así el flujo de carbono del ergosterol al taxol, proporcionando de esta manera una vía alternativa del taxol.

El suelo es un hábitat de muchos microorganismos, explotado intensamente para la obtención de compuestos naturales que incluyen los antibióticos como las tetraciclinas, eritromicina, vancomicina, β -lactámicos, cefalosporinas, rifamicinas y aminoglucósidos (kanamicina, gentamicina, estreptomicina, etcétera). Los microorganismos del suelo también son productores de otros compuestos como lipopéptidos, lipoproteínas, glucolípidos y lipopolisacáridos con propiedades surfactantes, así como proteínas: celulasas, amilasas, proteasas, y lipasas; que se usan ampliamente en la industria textil, farmacéutica y en la fabricación de detergentes. Otras enzimas necesarias para la investigación básica y biotecnológica son las enzimas endonucleasas de restricción, las utilizadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), las cuales se emplean en los laboratorios de investigación que realizan estudios con la metodología de DNA recombinante.

En el pasado, la investigación microbiológica de la industria farmacéutica se orientó principalmente al combate de problemas agudos, infecciones bacterianas y fúngicas, analgésicos, hipertensión y otros desórdenes médicos. Actualmente se enfoca a problemas crónicos y complejos, desórdenes degenerativos del sistema nervioso, inflamación crónica y autoinmune, cáncer, inmunosupresión, infecciones virales, etcétera. Además de las estrategias empleadas para el escrutinio sistemático de nuevos compuestos, se ha iniciado una nueva metodología de frontera, la cual se enfoca al análisis del metagenoma (DNA aislado del suelo). Así, un número importante de especies desconocidas de microorganismos no cultivados del suelo son accesibles y constituyen una fuente prometedora de productos naturales útiles. En 1998, un grupo de investigadores de la compañía farmacéutica ARIAD iniciaron un programa para acceder al metagenoma del suelo, aislaron el DNA de una muestra de suelo, lo clonaron en un vector especial capaz de portar fragmentos largos de DNA, lo introdujeron a *E. coli*, y realizaron un escrutinio de varias clonas, detectando algunas con actividades interesantes; una de ellas resultó tener una actividad antibacteriana, la sustancia se aisló y caracterizó resultando un compuesto con actividad antileucémica llamado indirubina.

Esta estrategia novedosa presenta algunos retos que será necesario resolver, pero muestra la posibilidad de hacer investigación relevante y prometedora, sin necesidad de aislar y caracterizar previamente al microorganismo.

ESTUDIOS FILOGENÉTICOS DE LOS MICROORGANISMOS

Inicialmente, los microbiólogos se fascinaron por la diversidad de microorganismos que encontraron en la naturaleza. Sin embargo, de 1950 a 1980, el campo de la microbiología fue dominado por el concepto del "microorganismo paradigma". La idea de que pocos microbios podrían servir como buenos modelos para el estudio de los procesos básicos perduró, pero lo que hace más fascinantes a los microorganismos es lo extraordinario de los arreglos de reacciones metabólicas que catalizan. A partir de los años 1990 el concepto de biodiversidad volvió a ser considerado, pero de una forma nueva y excitante, gracias en parte a los microbiólogos ambientales, quienes guardaron viva la flama de la biodiversidad durante los años de los "microorganismos paradigma". Pero, ¿por qué la diversidad es un tópico de actualidad? La revolución molecular nos ha demostrado cuán diversos son los microbios, y nos ha indicado un reto que no hemos sido capaces de superar —lo limitado de los microorganismos cultivables—; sólo sabemos cultivar alrededor de 5,000 especies, lo que representa 1% o menos de la población total. Igualmente relevante es la evidencia de la presencia de microbios en hábitats tan extremos como la profundidad de los océanos, los polos del globo terráqueo, los vientos hidrotermales, etcétera. Pero la biodiversidad no es el campo único de los microbiólogos ambientales, las infecciones emergentes aparecen en ambientes hospitalarios donde no se ha solucionado el problema de la resistencia a los antibióticos por bacterias que producen infecciones recalcitrantes. Enfermedades tan diversas como la arteroesclerosis, la artritis reumatoide, los autismos, entre otras, están siendo reconsideradas en su probable relación causal con los microorganismos.

¿Cuál fue la metodología que permitió constatar tales aseveraciones? En los años setenta, Carl Woese analizó una molécula de distribución universal a nivel molecular, el ácido ribonucleico ribosomal (RNA_r), la región que codifica para el RNA_s de la subunidad pequeña del ribosoma (SSUrRNA); el cual tiene las características de presentar un grado alto de conservación en su secuencia; aunque contiene regiones pequeñas muy divergentes, es refractario a la transferencia horizontal de

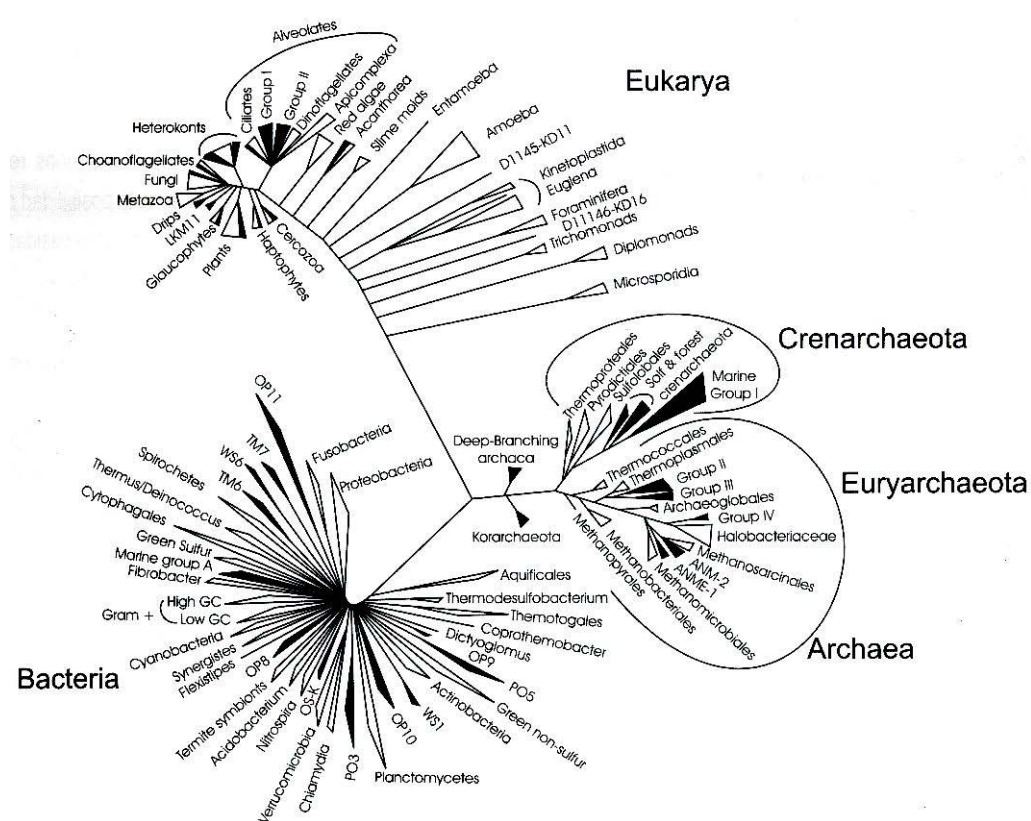


FIGURA 2. Representación esquemática del árbol de la vida basada en el análisis de las distancias de las secuencias de los genes RNAR de la subunidad pequeña del ribosoma SSURNA. En negro, los filotipos y linajes que han sido estudiados exclusivamente por amplificación directa de sus SSURNA del ambiente (tomado de Moreira y López García (Trends. Microbiol. 10: 31-38 2002).

genes, de gran tamaño, y puede ser aislado fácilmente. Woese obtuvo un sistema adecuado para definir la relación evolutiva de los microorganismos. El análisis de la secuencia proporciona la posibilidad de cuantificar las distancias genéticas entre los organismos a nivel de nucleótidos y provee un medio para la identificación taxonómica de los organismos. Woese esperaba que las secuencias de los organismos se ubicaran en dos grupos fundamentales; sin embargo, esto no fue así, encontrándose tres grupos. Para explicar esta aparente discrepancia, propuso que hay tres líneas primarias de evolución descendente o dominios, llamados *Archaea* (Arquibacterias), (eu)*Bacteria* y *Eucarya* (Eucariotes), en lugar de la clásica división Procariotes y Eucariotes. Estudios posteriores con otros genes han confirmado definitivamente esta hipótesis. En pocos años, el análisis de SSURNA de secuencias amplificadas por PCR directamente de muestras ambientales, ha cambiado nuestra percepción de la biosfera. Los estudios realizados han indicado que los microorganismos que son cultivados fácilmente, no son representativos de la población de un hábitat dado. De hecho, los microorganismos que tienden a ser más abundantes en un ambiente, típicamente son recalcitrantes a los esfuerzos de su cultivo. Este fracaso se ha

atribuido al fenómeno de sintropismo (la interdependencia de dos o más microorganismos). Mavin Bryant y Ralph Wolfe, en 1960, describieron varias especies que transfieren hidrógeno y cada una se localiza en una cadena, de tal manera que no es posible aislarlas independientemente sino en forma de consorcio o grupo de microorganismos. La sintropía es probablemente una característica común en los ecosistemas microbianos. La biología molecular proporciona las vías de estudio de los microorganismos de diversos entornos sin necesidad de cultivarlos. Desde 1987, los investigadores han catalogado al menos 13 nuevas divisiones filogenéticas en el dominio de las bacterias y más de una tercera parte son microorganismos conspicuos y no cultivados. También se han propuesto dos reinos en las arquibacterias: *Crenarchaeota* y *Euryarchaeota*. Además, se propone un tercer candidato, *Koarchaeota*, en donde se agrupan varios filotipos hipertermófilos (figura 2). Más recientemente estos estudios se han aplicado a microorganismos piceucariotes (de tamaño pequeño, 1-2 μm) localizados en el plancton, en diferentes regiones de los océanos. Varios de los filotipos (secuencia SSURNA ambiental representando un linaje no cultivado) de la zona fótica (la región donde la luz solar penetra, máxima profundidad 200m), se afilian en grupos fotosintéticos de una amplia diversidad y muchos de esos filotipos (secuencia de



ssuRNA ambiental representando un linaje no cultivado) aparecen en regiones geográficas distintas. Estos estudios iniciales sugieren que una amplia diversidad de microorganismos eucariotes serán descubiertos y no sólo en los océanos, sino también en otros ecosistemas.

EL INICIO DE LA GENÓMICA MICROBIANA

En julio de 1995, J. Craig Venter y Hamilton O. Smith, de la compañía Celera Genomics, y Claire M. Fraser del The Institut for Genomic Research (TIGR), publicaron la primera secuencia completa del cromosoma de un microorganismo: *Haemophilus influenzae* cepa Rd. Este hecho marcó un hito en la historia del estudio de los microorganismos. El análisis de la secuencia mostró algunas sorpresas. De 1,743 ORF (*open reading frame*, por sus siglas en inglés, o fase abierta de lectura, es decir secuencias que son susceptibles de codificar para una proteína), sólo 1,007 pudieron ser asignadas a una función basándose en la similitud con secuencias de proteínas previamente descritas. El grupo de Fraser continuó con la secuencia del genoma de *Mycoplasma genitalium*, bacteria que tiene el genoma más pequeño de las especies bacterianas conocidas. Les interesaba conocer el número y calidad de genes esenciales de la célula. Posteriormente continuaron con el genoma de *Methanococcus jannaschii*, una extraordinaria arqueobacteria aislada de las costas de México a 2,600 metros de profundidad, a 200 atmósferas de presión, que crece a 85°C, y es capaz de transformar el CO₂ a metano y generar la energía para su metabolismo. La secuencia arrojó los datos siguientes: alrededor del 50% de genes no se relacionan con secuencias previas, sugiriendo que codifican para mecanismos fisiológicos inexplorados. Ese mismo año la secuencia del genoma de *S. cerevisiae*, el primer eucariote se completó; se encontraron aproximadamente 6,000 genes, y al menos 2,000 de función desconocida.

A partir del análisis de estas primeras secuencias, varias agencias internacionales iniciaron programas sistemáticos de secuenciación de microorganismos. Como una parte de las iniciativas para explorar la contribución de los microorganismos en el secuestro global del carbono, el Instituto JGI (The Joint Genomic Institute) secuenció el genoma de la bacteria *Nitrosomonas europaea*. Este organismo tiene un papel central en la disponibilidad del nitrógeno en las plantas

y por tanto limita la fijación de CO₂. *N. europaea* es también capaz de degradar una variedad de compuestos orgánicos halogenados, incluyendo tricloro etileno, benceno y cloruro de vinilo, por lo que es un microorganismo atractivo para la biorremediación, además de ser un participante importante del ciclo biogeoquímico del nitrógeno. Su hábitat es el suelo, agua, y paredes de monumentos, especialmente en ciudades contaminadas, donde el aire contiene una gran cantidad de compuestos nitrogenados. El segundo microorganismo que fue secuenciado por esta agencia fue *Prochlorococcus marinus*; se especula que los miembros de este grupo de cyanobacterias son los más relevantes organismos fotosintéticos del planeta, siendo responsables de una importante fracción de la fotosíntesis (del 30-80%) que se realiza en los océanos de climas templados y tropicales. Esto lo hace tener un papel significativo en el ciclo de carbono global y en el clima del planeta. Otro aspecto interesante es su contenido de los pigmentos particulares esenciales para el proceso fotosintético, la zeaxantina y la ficoeritrina, que emplea en lugar de la clásica clorofila. La descripción del genoma completo de este microorganismo permitirá un gran avance en la comprensión de importantes procesos geobioquímicos globales del planeta. *Rhodospseudomonas palustris* es una bacteria fototrófica capaz de convertir la luz solar en energía celular al fijar el CO₂, el N₂ y el H₂. También degrada y recicla una variedad de compuestos aromáticos. La bioenergía puede ser un medio práctico para obtener una fuente de energía barata limpia e ilimitada, por medio de la utilización de estos microorganismos.

Actualmente han sido publicadas 15 secuencias de arqueobacterias, 59 de bacterias y sólo una de eucariotes. En curso, no concluidas: 11 de arqueobacterias, 261 de bacterias y 3 de microorganismos eucariotes. Ejemplos de ellas son las secuencias de protozoarios como *Entamoeba histolytica*, *Leishmania chagasi*, *Gardia lamblia*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Toxoplasma gondii*, de hongos como *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*.

La velocidad con que un genoma microbiano es secuenciado actualmente es muy grande, gracias a dos metodologías que han acelerado notablemente el proceso: el empleo de nucleótidos marcados con reactivos fluorescentes y las poderosas herramientas computacionales utilizadas en la resolución de la secuencia.

POSTGENÓMICA

A raíz de la consolidación del programa genético en los últimos años, la postgenómica es el punto de partida para las investigaciones en el futuro. Al estudio del transcriptoma (el repertorio de las moléculas de RNA mensajero que se expresan) y el proteoma (el análisis de las proteínas y su condición, ya sea normal o patológica), se le ha llamado comúnmente postgenómica.

El conocimiento de los genomas de los microorganismos nos facilitará la tarea de su estudio; sin embargo, su conocimiento no reemplaza la necesidad de conocer las funciones que realizan en la célula. El número de genes importantes sin caracterizar subraya el hecho de que contar con el genoma de un microorganismo es justo el punto de inicio para su comprensión y estudio. Por lo tanto, el gran reto para el futuro es definir las funciones de las proteínas del genoma y descifrar las redes funcionales de regulación. Los datos aportados actualmente indican que un microorganismo puede contener alrededor de 1,000 a 5,000 genes, de los cuales 20-70% de ORFs son consideradas proteínas putativas que son descritas como de función desconocida. Algunas de las proteínas reguladoras pueden tener una docena de funciones celulares que pueden variar de una célula microbiana a otra; además, una proteína puede contener varios dominios funcionales lo cual complica el análisis estructura-función. Desde luego, la genómica es sólo el primer paso para discernir los procesos fundamentales que gobiernan la vida. El gran reto en el futuro es definir la función de las proteínas codificadas por el genoma, incluyendo el gran número de nuevas proteínas de función desconocida, y descifrar las redes funcionales de los genomas. Integrar los resultados de los esfuerzos de secuenciación con la información existente y con una base de datos bien desarrollada producirá un panorama amplio del metabolismo celular y de la función genética.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

En 1999, la Academia Americana de Microbiología (AAM) convocó a una reunión para analizar el "estado del arte de la genómica" en la investigación microbiológica y redactar un reporte con algunas observaciones:

La organización y la disseminación de la tecnología y los datos es azarosa. Se señala la ausencia de una amplia discu-

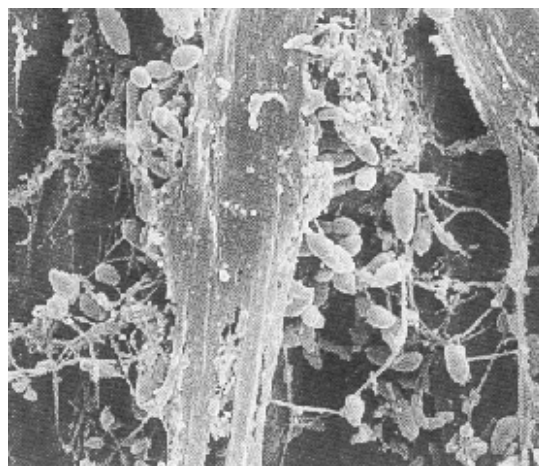


FIGURA 3. Microscopía electrónica de barrido (SEM) de una raíz de trigo inoculada con *Azospirillum brasilense* Sp7, en la cual produce un aumento del desarrollo del sistema de raíz, incremento de los pelos radicales, lo que trae como consecuencia un mejor estatus nutricional en la planta hospedera.

sión sobre las prioridades y objetivos en la selección de los genomas que serán secuenciados; en este aspecto el proceso es un tanto caótico y requiere de una coordinación; debería presentarse una lista de los genomas microbianos que deben secuenciarse. Los fondos para esta investigación son aportados por agencias gubernamentales, por ejemplo, en los Estados Unidos están involucrados los departamentos de defensa, de energía, de agricultura, los institutos de salud y la agencia The National Science Foundation, así como compañías como TIGR, JGI y Celera. En Europa participan The European Bioinformatic Institut, The Sanger Center, el Instituto Pasteur, así como universidades europeas. Los microorganismos que deben ser considerados para ser secuenciados son los patógenos para el humano, los patógenos de interés agrícola, los que son importantes para la producción de energía o para la remediación de contaminantes, los que son interesantes por el hábitat que colonizan o por su peculiar estilo de vida. ¿Cuándo y cómo las secuencias deben publicarse? Algunas agencias o consorcios de investigadores proponen que los datos de la secuencia no sean publicados inmediatamente, con el fin de que aquellos que han generado la información tengan la oportunidad de analizar los datos y su significado y estar seguros de que éstos son correctos. Al parecer, existe una regla no escrita: los generadores de la secuencia pueden utilizarla de una manera exclusiva por al menos una etapa del análisis global. En cuanto a la informática, es necesario formar recursos humanos entrenados en esa área, pero con conocimientos profundos en biología molecular, que desarrollen herramientas poderosas para ordenar e interpretar los datos obtenidos.

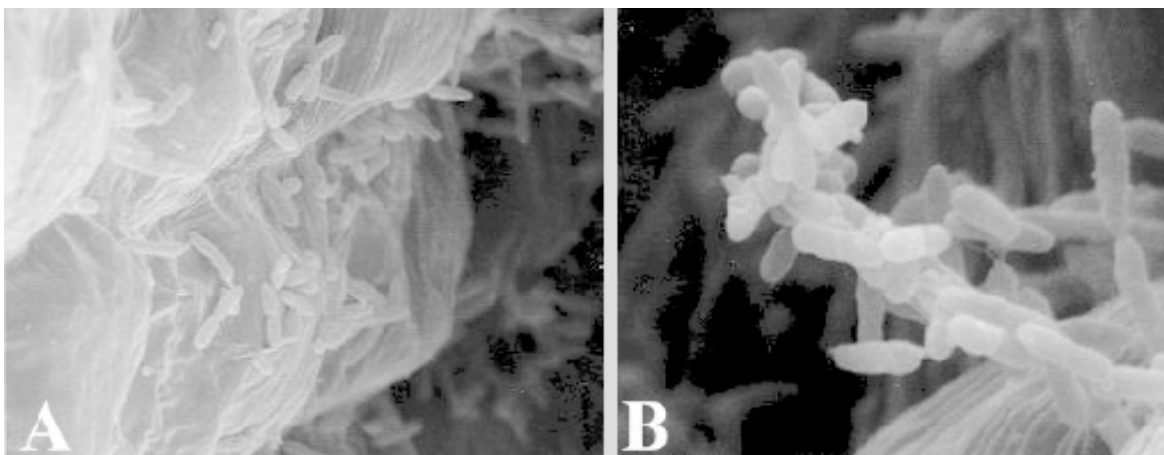


FIGURA 4. A, Microscopía electrónica de barrido (SEM) de un tallo de caña de azúcar colonizado con *Gluconacetobacter diazotrophicus*, microorganismo fijador de nitrógeno. B, SEM de células de *G. diazotrophicus* mantenidas agrupadas por medio de un material mucilaginoso en el interior de la caña de azúcar. Cortesía de la doctora Christina Kennedy de la Universidad de Tucson Arizona.

CONSIDERACIONES FINALES

Desde los días de Leeuwenhoek, los microbiólogos han reconocido que nuestro conocimiento del mundo microbiano depende fundamentalmente de los avances tecnológicos. Las expresiones macroscópicas de la microbiótica existen desde luego, en la forma y color de las colonias, biofilms (figura 3), que representan las agregaciones naturales de la vida microbiana. Pero es obvio que la expresión de la biota microbiana no puede comprenderse sin un reconocimiento de sus detalles microscópicos. Sabemos “oler y gustar” los aromas microbianos con espectrómetros de masas, microelectrodos, avanzadas técnicas cromatográficas y el empleo de isótopos. Observamos el universo microbiano con el microscopio electrónico (figura 4). A nivel subcelular, las intrincadas redes metabólicas son analizadas usando una serie de herramientas bioquímicas y biofísicas. Los mecanismos de la herencia y la genealogía de la vida misma son expuestos por la genética avanzada y la tecnología genómica, pero un acercamiento profundo a los ecosistemas naturales representa uno de los grandes retos en la biología microbiana.

La tecnología, por sí misma, no proporciona un entendimiento sustantivo del universo microbiano, pensamos que vivimos “la edad de la información”, con excesivos genes, secuencias, reacciones, y datos, los cuales debemos de integrar para lo cual es necesario desarrollar rápidamente la bioinformática necesaria para organizarla.

La ecología microbiana necesita de proyectos para cultivar nuevos microbios, describir la composición y dinámica de las comunidades microbianas, hacer la metagenómica a gran

escala y sin fines comerciales; estudiar la expresión de los genes y las interacciones *in situ*, crear las bases de datos y herramientas informáticas necesarias para poder interpretar el enorme flujo de datos que se está generando; por lo que será indispensable incorporar científicos en computación y bioinformática, con amplios conocimientos en biología molecular. Este es el reto al que se enfrentan los microbiólogos del siglo XXI.

N O T A S

- ¹ Amann, R., J. A. Breznak, R. R. Colwell, J. Davis de Lorenzo, V., Crystal ball, *Environ. Microbiol.*, 4: 3-17, 2002.
- ² Brock, T. D., Robert Koch, *A life in medicine and bacteriology*, ASM Press, Washington D. C., 1999.
- ³ Demain, A. L., Microbial natural products: alive and well in 1998, *Nature Biotechnol.*, 16:3-4, 1998.
- ⁴ Dubos, R., *Pasteur and modern science*, ASM Press, Washington D. C., 1988.
- ⁵ Moreira, D. and López-García, P., The molecular ecology of microbial eukaryotes unveils a hidden world, *Trends. Microbiol.*, 10:31-38, 2002.
- ⁶ Osburne, M. S., Grossman, T. H., August, P. R. and MacNeil, I. A., Tapping into microbial diversity for natural products drug discovery, *ASM News*, 66:411-417, 2000.
- ⁷ Pace, N. R., A molecular view of microbial diversity and the biosphere, *Science*, 276:734-74, 1997.
- ⁸ Strobel, G., and Long, D. M., Endophyte microbes embody pharmaceutical potential, *ASM News*, 64:263-329, 1998.
- ⁹ Venter, J. C., Smith, H. O., and Fraser, C.M., Microbial genomics in the beginning, *ASM News*, 65: 322-327, 1999.

Beatriz Eugenia Baca es investigadora del Centro de Investigaciones Microbiológicas del ICUAP. ebaca@siu.buap.mx



© Patricia Lagarde, de la serie *Desde la ventana*.

Tripanosomiasis americana

O “mal de Chagas”

Otra enfermedad de la pobreza

José Luis Imbert Palafox
Ana Hilda Figueroa Gutiérrez
Juan Vicente Gómez Gómez

Carlos Chagas perteneció a un grupo de jóvenes talentos brasileños quienes bajo el liderazgo de Oswaldo Cruz llegaron a ser conocidos como “la escuela de Manguinhos”. Hombro a hombro con otros científicos del Instituto Oswaldo Cruz, quienes también hicieron importantes contribuciones a la medicina tropical, llegó a ser sin lugar a dudas el más famoso por su descubrimiento de la tripanosomiasis americana.¹ Este hallazgo se ha considerado único en los anales de la medicina debido al orden inverso en que sucedió, pues primero se descubrió el agente etiológico y luego se “inventó” la enfermedad. El impacto de esta contribución científica en la salud pública del Brasil y del resto de América Latina, hacia 1920, se puede comprender al analizar cómo la oposición de los “higienistas” tradicionales produjo un rechazo general –cuyo costo incluyó un Premio Nobel–, hacia un punto de vista original, novedoso y diferente pues el descubrimiento promovía una entidad nueva –“emergente”, se diría ahora.

Carlos Justiniano Riveiro Chagas nació en Oliveira, al oeste de Minas Gerais, en 1879. Se matriculó en la Facultad de Medicina de Río de Janeiro en 1897 y obtuvo su grado de doctor en 1903, con la tesis *Estudo hematológico do paludismo*. En 1907 ingresó al Instituto Sorotérico Federal de Manguinhos, donde trabajó durante toda su vida, y el que luego se llamará Instituto Oswaldo Cruz. Sus estudios sobre protozoología, realizados en 1909, le ayudaron a describir un nuevo protozooario, al cual nombró *Trypanosoma cruzi* como un homenaje a su maestro Oswaldo Cruz, y posteriormente a descubrir la enfermedad de Chagas en 1910. El agente etiológico de la tripanosomiasis americana fue descubierto inicialmente en chinches triatomíneos “conocidos como barbeiros”, del género *Panstrongylus megistus*, colectados en Lassance, estado de Minas Gerais, Brasil.

Publicado en portugués y alemán, en el primer volumen de las *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* en agosto de 1909, el artículo se llamó “Nova tripanozomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi*, n.sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem”. En este trabajo, el joven investigador de 29 años describe el agente, los vectores, los signos clínicos en el hombre, y la existencia de reservorios animales de la nueva enfermedad. También describe el ciclo biológico del parásito en el tracto digestivo del vector invertebrado y su cultivo en agar con sangre.²

El final del siglo XIX vio la creación de un buen número de institutos relacionados con el estudio de las enfermedades tropicales, como la Escuela de Medicina Tropical de Liverpool (1898), la Escuela de Higiene y Medicina Tropical de Londres (1899) y, en 1900, el Instituto Bernhard-Nocht de Hamburgo. El Instituto Oswaldo Cruz no fue creado con fines colonialistas o militares. Su creación, el 25 de mayo de 1900 como Instituto Soroterápico Federal de Manguinhos, obedeció a la preocupación del gobierno brasileño por erradicar enfermedades endémicas tales como la peste bubónica, el paludismo, la fiebre amarilla y la viruela; en su gestación es innegable el papel de visionario y el liderazgo que desempeñó Oswaldo Cruz.¹¹

Oswaldo Gonçalves Cruz, nació el 5 de agosto de 1872, en el estado de São Paulo. Ingresó a la Facultad de Medicina en 1889, completando sus estudios médicos y graduándose en diciembre de 1892, después de defender con éxito su tesis *La transmisión de los microbios en agua*. De 1896 a 1898, estudió en el Instituto Pasteur en París bajo la supervisión del profesor Emille Roux, y allí se convenció de que la filosofía pasteuriana de combinar investigación estratégica, desarrollo, producción y educación de jóvenes investigadores en una institución singular sería la clave del éxito.

Al iniciar la difusión del papel que la ciencia podría jugar en el desarrollo de Brasil, recibió el apoyo del más alto nivel político (el presidente Rodrigues Alves) hasta adquirir un liderazgo nacional que le permitió movilizar los fondos para construir una institución de primera clase. Atrayendo la colaboración de otros científicos, particularmente de Alemania, —como Gustav Giemsa, Stanislas von Prowazek, Max Hartmann—, favoreció la interacción de los jóvenes estudiantes e investigadores brasileños en el trabajo científico. Se ha sugerido que Carlos Chagas tuvo una fuerte influencia del protozoólogo alemán Fritz Schaudinn.¹² Este investigador, además de ser el descubridor de la espiroqueta que lleva su



© Patricia Lagarde, de la serie *Desde la ventana*.

nombre, publicó la primera revista internacional de protozoarios.^{12 bis} Con los fondos gubernamentales o con la venta de sueros y vacunas construyó una biblioteca biomédica de lo más completa, al adquirir colecciones de revistas y periódicos, algunas de ellas del siglo XVIII. En 1911, la biblioteca tenía más de 10,000 volúmenes, conformando la colección especializada más grande en América del Sur.²

Con la muerte prematura de Oswaldo Cruz, a la edad de 45 años, Carlos Chagas se convirtió en el director del Instituto en 1917, puesto que conservó hasta su muerte a la edad de 55 años, en Río de Janeiro, el 8 de noviembre de 1934.

Después del descubrimiento, Carlos Chagas recibió varios premios, grados honorarios y distinciones (Miembro Extraordinario de la Academia Brasileña de Medicina; recibió en 1912 el premio Schaudinn, del Instituto de Enfermedades Tropicales de Hamburgo, otorgado cada cuatro años al mejor trabajo en Parasitología y Medicina Tropical en el mundo; el gran premio de la exposición conmemorativa del Centenario de Pasteur en Estrasburgo en 1922). Este éxito provocó una abierta oposición, la cual culminó en 1916, con la negación de los hallazgos de Chagas por Rudolf Kraus, del Instituto Bacteriológico Argentino y uno de los más prominentes microbiólogos alemanes, argumentando que él había encontrado insectos infectados pero no había encontrado casos humanos de la enfermedad de Chagas en el Chaco argentino, por lo que relacionó la enfermedad con el bocio y el cretinismo. Posteriormente, en 1920, Chagas volvió a tener una fuerte oposición en la Academia Nacional de Medicina; este debate se mantuvo de 1922 a 1924, hasta que el 6 de diciembre de 1924 la comisión académica encargada del caso decidió a favor de Chagas. Sin embargo, este episodio ya había tenido un efecto devastador y la enfermedad de Chagas se olvidó durante 20 años.^{2,9} El descubrimiento de Chagas se reconoció en todo el mundo, y a él se lo nominó en dos ocasiones



para recibir el Premio Nobel –en 1913 y en 1921–, pero no fue galardonado. En los años dorados de la medicina tropical, cuando ésta era una de las más prestigiosas ciencias, un trabajo como el de Chagas podría haber obtenido el premio. Otros cazadores de parásitos como R. Ros, en 1902, y A. Laveran, en 1907, ya habían recibido la medalla.⁹

Afortunadamente, el asunto se revirtió en años posteriores con el “redescubrimiento” de la enfermedad de Chagas que se debió principalmente al trabajo del médico Salvador Mazza en Argentina, quien describió más de mil casos en las regiones en las que había buscado Kraus 20 años antes.²

LA SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA ACTUAL

La prevalencia total de la infección por *T. cruzi* se pudo estimar de una manera confiable en la década de 1980. Empleando protocolos estandarizados se demostraron 18 millones de casos en 21 países endémicos con 100 millones de personas en riesgo de infección. De acuerdo con los datos del Banco Mundial, en 1993 se estableció que la enfermedad de Chagas

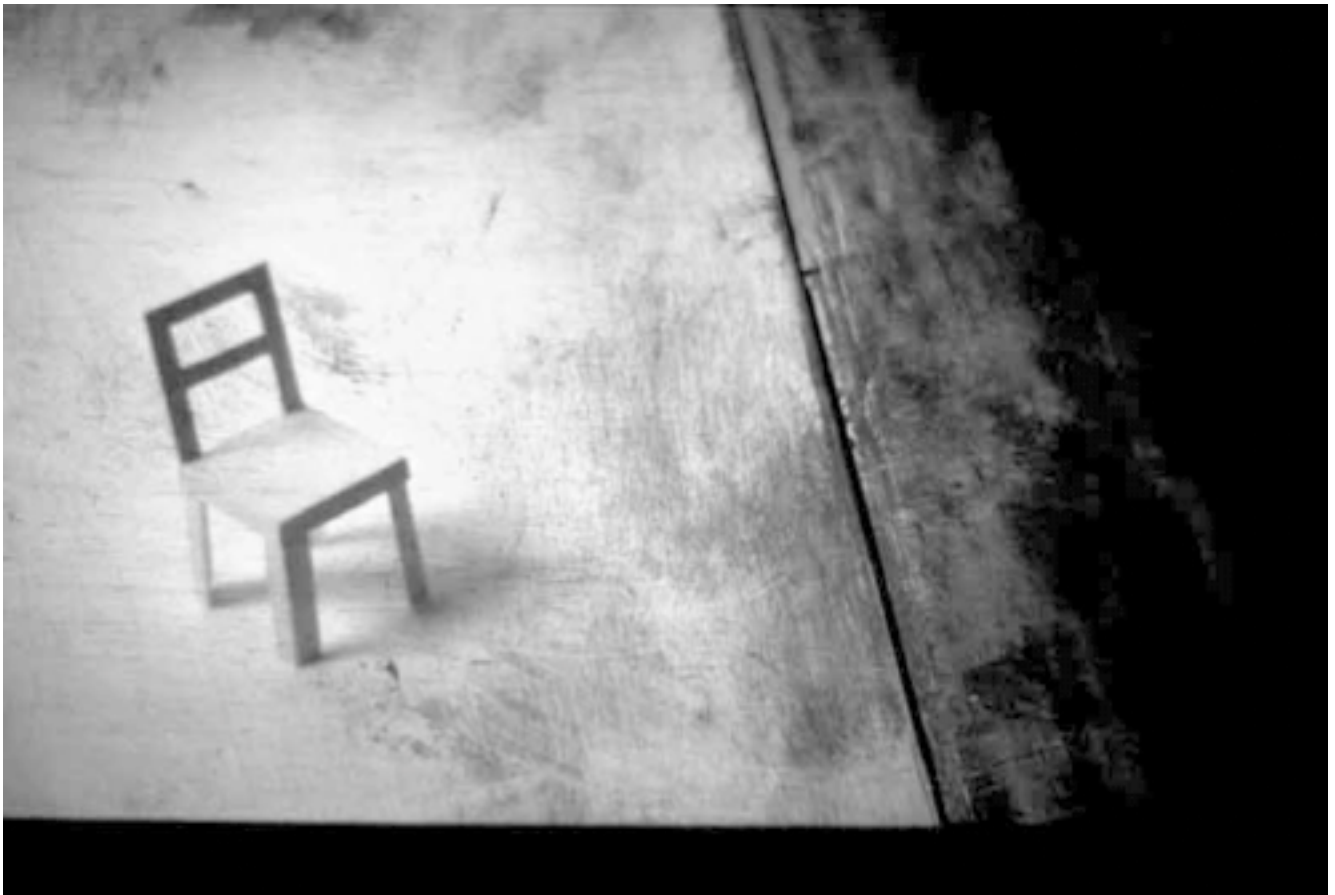
en Latinoamérica ocupa el primer lugar entre las enfermedades tropicales y el cuarto entre las enfermedades transmisibles, sólo debajo de las infecciones respiratorias agudas, de las enfermedades diarreicas y del sida.² También representa una pérdida económica para los países endémicos equivalente a cerca de 6.5 billones de dólares por año. Algunos gobiernos de América Latina han dado prioridad al control de la enfermedad: en 1991, la Iniciativa del Cono Sur agrupó a Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay. Iniciativas recientes como la del pacto de los Andes agrupa a Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela y, en América Central, en 1997, a El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua.^{2,5}

Si Carlos Chagas, en sus trabajos iniciales, llamó la atención sobre la relevancia social, económica y de salud pública de la enfermedad que había descubierto, ¿por qué tomó tanto tiempo el descorrer completamente el velo de este flagelo? ¿Fue que las investigaciones carecían de evidencia científica?²

Pensamos que las razones por las que esto sucedió se deben a que la enfermedad afecta principalmente áreas rurales pobres que tradicionalmente han recibido poca o nula prioridad política, y muestra cuán profunda puede ser la brecha entre los investigadores, los ejecutores de decisiones, los políticos y el interés público.²



© Patricia Lagarde, de la serie *Desde la ventana*.



© Patricia Lagarde, de la serie *Desde la ventana*.

EL CONTROL DE LA ENFERMEDAD

Un pequeño grupo de investigadores que trabajaba en la legendaria estación de campo de Bambuí, Brasil, concluyó que al igual que muchas enfermedades parasitarias, la enfermedad de Chagas podría ser controlada al eliminar a las poblaciones de vectores, principalmente empleando insecticidas y mejorando las viviendas. Díaz y Pellegrino, en Brasil, así como Romaña y Ábalos, en Argentina, mostraron en 1947 la eficacia de los insecticidas organoclorados contra las chinches o triatominos intradomiciliarios. Sin embargo, la evidencia de que la enfermedad de Chagas podía ser eliminada no fue suficiente para movilizar las fuerzas políticas de las naciones y, así, las acciones realizadas entre 1950 y 1975 para luchar contra la transmisión vectorial quedaron aisladas.² Este panorama cambió en los noventa cuando en seis países endémicos se estableció la llamada Iniciativa del Cono Sur, la cual tuvo su origen en una reunión científica que comenzó en 1974 con menos de diez participantes, y culminó en 1979 con un congreso internacional de gran influencia política y científica.

¿CÓMO SE PRESENTA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS?

Es una entidad clínica endémica causada por *T. cruzi*; el protozoo es transmitido al ser humano por insectos hematófagos (que se alimentan de sangre); a su vez, estos vectores se infectan al alimentarse de mamíferos infectados y permanecen así durante toda su vida.

La infección por *T. cruzi* tiene un periodo de incubación de cuatro a diez días, casi siempre sin síntomas; posteriormente puede presentar tres fases:

Fase aguda: puede durar de uno a cuatro meses; cuando ocurre en niños puede ser desde asintomática hasta grave o fatal, se caracteriza por fiebre variable, malestar general, irritabilidad, dolor de cabeza, crecimiento de hígado, bazo y ganglios. Cuando la inoculación es cercana al área ocular, es común encontrar una reacción inflamatoria local (chagoma) con crecimiento de los nódulos linfáticos regionales, así como un edema unilateral de ambos párpados (signo de Romaña). Las manifestaciones que amenazan la vida o que son mortales incluyen inflamación del músculo del corazón así como del cerebro y las meninges. Durante esta etapa, el



diagnóstico de la enfermedad es muy difícil y a veces suele confundirse con otras enfermedades. Los exámenes de laboratorio pueden aislar el parásito en estudio de sangre directo en fresco, frote o gota gruesa teñido con Giemsa, inoculación en animales y cultivo en medios difásicos de agar sangre.

Fase indeterminada: no se encuentran signos o síntomas. Sin embargo, las pruebas serológicas son positivas y si se estudia adecuadamente al paciente, se encontrarán datos sugestivos de miocarditis.

Fase crónica: las manifestaciones aparecen casi siempre en personas de 20 a 50 años de edad. La enfermedad cardíaca generalmente conduce a la muerte. También se observan algunos órganos agrandados (visceromegalias o dilatación visceral), especialmente el esófago y el colon; con menos frecuencia se encuentran formas que afectan al sistema nervioso central, o bien inflamación de mucosas y glándulas. Después de un periodo asintomático de muchos años, 27% de las personas infectadas desarrolla daño cardíaco que conduce a la muerte; 6% desarrolla daño visceral, y 3% puede desarrollar daño en el sistema nervioso.

Durante las fases crónica e indeterminada, es de gran importancia el diagnóstico de laboratorio ya que se puede demostrar la presencia de anticuerpos específicos generados por la infección de *T. cruzi*. El xenodiagnóstico y las biopsias de ganglios son estudios que se realizan en esta fase. Las pruebas diagnósticas recomendadas por la Organización Mundial de la Salud y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) son: hemaglutinación indirecta, ELISA indirecta e inmunofluorescencia indirecta. Es necesario realizar dos pruebas simultáneas, pues se incrementa la certeza diagnóstica. Además, ya que la enfermedad es incurable, salvo durante las primeras fases, y que hasta el momento no hay vacunas, el control depende mucho de la eliminación de las poblaciones domésticas de los insectos transmisores.

LOS TRIPANOSOMAS Y LOS TRIATOMAS SON MÁS ANTIGUOS QUE EL HOMBRE

Los protozoarios flagelados del género *Trypanosoma* son parásitos ubicuos que se encuentran en todas las clases de vertebrados y son transmitidos por artrópodos hematófagos. Los tripanosomas generalmente sufren uno o más ciclos de desarrollo y multiplicación en el tracto alimentario del insecto, antes de que las formas infectivas sean transmitidas a un



nuevo vertebrado por la vía salival, por contaminación con heces o por ingestión del vector. En este y otros aspectos las historias de vida de los dos tripanosomas patógenos son muy diferentes: *Trypanosoma brucei* –que ocasiona la enfermedad del sueño en África–, es transmitido por la saliva de las moscas Tse-Tse, pero *T. cruzi* es transmitido por las heces de las chinches, en la llamada “ruta estercórea”.

Debido a que los tripanosomas aparecieron muy temprano en la evolución, hace aproximadamente 680 millones de años (mda), es posible que hayan infectado a mamíferos primitivos y que, por lo tanto, su evolución podría estar, al menos en parte, correlacionada con la evolución de los mamíferos continentales.

Cuando se presentó la deriva de los continentes y los movimientos de las placas tectónicas y el supercontinente Pangea se dividió, también quedaron limitadas las dos líneas de parásitos; se ha sugerido que *T. cruzi* volvió a divergir de los otros Tripanosomas hace 475 mda; esta época fue varios millones de años antes de la evolución de los primeros insectos y de los primeros vertebrados terrestres sucedida hace 380 mda. Posteriormente hubo una evolución de dos linajes de *T. cruzi*; se piensa que la divergencia ocurrió hace 88 a 37 mda, después de lo cual cada linaje sufrió



historias evolutivas separadas en el norte y el sur de América relacionadas sobre todo con las faunas de mamíferos particulares de las dos regiones.⁶ Esta última evolución de los dos subgrupos de *T. cruzi* se ha correlacionado con el intercambio de las faunas de mamíferos americanos que sucedió en la era Cenozoica y tiene implicaciones relacionadas con la patogenicidad y la especificidad del huésped, es decir, la identificación del subgrupo tiene importancia clínica. El subgrupo 2 es nativo de América del Sur, aunque el subgrupo 1 se introdujo más recientemente a Sudamérica, junto con los mamíferos de tipo placentario, después de la conexión de las Américas en el Plioceno, hace 5 mda, a través del istmo de Panamá. Esto podría explicar la asociación preferencial del linaje 2 con animales marsupiales y del linaje 1 con la enfermedad humana.

La relevancia de estos hallazgos con respecto a las propiedades biológicas y epidemiológicas de *T. cruzi* es que sugieren que el linaje 1 predomina en el ciclo doméstico y podría promover altas parasitemias en humanos, aunque el linaje 2 está presente principalmente en el ciclo selvático.





En África, los primeros homínidos evolucionaron hace 5 a 15 mda, el género *Homo* hace 3 mda y el *Homo sapiens* no más temprano que hace 300,000 años, presumiblemente en continuo contacto con moscas Tse-Tse y tripanosomas africanos. En contraste, el contacto humano con *T. cruzi* podría no haber ocurrido previo a la migración humana a las Américas, la cual data de hace 30-40,000 años. Así, aunque *T. brucei* ha coevolucionado con los homínidos desde África, *T. cruzi* ha evolucionado principalmente en ausencia del hombre, sin embargo ambos permanecen altamente patógenos para los humanos a pesar de sus historias evolutivas muy diferentes.^{6,7,8}

LOS VECTORES O INSECTOS TRANSMISORES DE LA ENFERMEDAD

Actualmente hay 130 especies reconocidas agrupadas en 15 géneros de triatomínos, todas están caracterizadas por un hábito obligado de chupar sangre y varias adaptaciones asociadas que incluyen modificaciones de la boca, de la saliva y de las funciones digestivas; esto significa que probablemente se hayan originado de formas predatorias bastante diferentes.³

Las especies de mayor significación epidemiológica son las que colonizan fácilmente las viviendas de los humanos, viven en grietas y hendiduras de las casas rurales y salen por las noches para alimentarse de la sangre de sus ocupantes dormidos. Muchas de las especies principalmente silvestres invaden las casas (atraídas por la luz) contribuyendo así a la transmisión de *T. cruzi*.⁴ Las tribus, géneros y especies de la subfamilia *Triatominae* (Hemiptera: Reduviidae)³ se presentan en la tabla I.

En la República Mexicana se distribuyen un mínimo de 32 especies de triatomínos pertenecientes a siete géneros distribuidos en todos los estados. Las mexicanas de mayor importancia son *Rodnius prolixus*, *Triatoma dimidiata*, *Triatoma barberi*, *Triatoma longipennis*, *Triatoma phyllosoma* y *Triatoma picturata*. Algunos autores refieren que México es el país latinoamericano que tiene mayor población de triatomínos incluyendo a dos especies que vuelan, una en la altiplanicie, *T. barberi*, y otra en el golfo de México, *T. dimidiata*.¹⁶

LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN MÉXICO

Se dice que en nuestro país, a pesar de tener una excelente tradición de investigación en esta enfermedad, durante las

décadas de los cincuenta y sesenta, su importancia fue subestimada.⁵ Puede que haya sido así pues en el libro centenario de la Academia Nacional de Medicina editado en los años cincuenta y que presenta las investigaciones más relevantes de la época no se menciona; a pesar de las investigaciones de Mazzotti realizadas en el segundo lustro de los treinta y de la influencia de investigadores brasileños que interaccionaron con mexicanos, el estudio de la enfermedad se mantuvo sin notoriedad.^{18, 13bis} Durante los años sesenta y setenta, Tay, los Biaggi y otros, investigaron y escribieron sobre la enfermedad en México,^{16,19} aunque en 1984, en un libro de Infectología Clínica escrito por autores mexicanos,¹⁰ aún no se menciona la historia natural de la enfermedad de Chagas. ¿Por qué pasó inadvertida la enfermedad en el ambiente científico, médico y clínico mexicano?

Aunque no se puede decir que haya habido menosprecio hacia la parasitología en nuestro país, nos consta que en parte se debe a la apreciación higiénico-sanitarista de las autoridades mexicanas, que pusieron a las enfermedades parasitarias en el último lugar. A no ser por las investigaciones sobre amibas en los setenta, o bien las cisticercosis en los ochenta, no hubo otras parasitosis a las que se les prestara atención. De aquí que se requiere investigar por qué no se incorporó a los programas de estudio o a los planes de acción de las escuelas de medicina e instituciones relacionadas con la salud, permaneciendo durante años como una enfermedad de los países o estados de tipo tropical, exóticos o selváticos como Brasil, Guatemala o Chiapas.¹⁷

MÁS DATOS DE LA ENFERMEDAD EN MÉXICO

En la encuesta nacional seroepidemiológica realizada en 1987 en México, que se efectuó en los 32 estados de la República, visitando 32,000 viviendas y recolectando 70,000 muestras de sangre, se planteó por vez primera la búsqueda de anticuerpos contra la tripanosomiasis americana.^{13,13bis} En esa encuesta existieron grandes diferencias en la seropositividad a la enfermedad de Chagas y se detectaron focos nuevos de endemia, en estados como Chiapas e Hidalgo.¹⁴

En 1992, una encuesta serológica a gran escala de donadores de sangre y de poblaciones rurales mostró una prevalencia de infección total de 500,000 casos, y encuestas posteriores han confirmado altos niveles de infección, especialmente en los estados del centro y del sureste de México.

Desde 1997 se ha desarrollado un sistema de tamiz mejorado de los donadores de sangre, aunque la cobertura es incompleta. Las actividades de control de los vectores se han implementado a gran escala, aunque los primeros intentos empleando piretroides modernos empezaron en 1998.⁵

La enfermedad de Chagas es un problema de salud pública no reconocido plenamente por las autoridades mexicanas, y en términos económicos y humanos no es posible definir sus alcances ya que no existe seguimiento de un programa epidemiológico. Sin embargo, el Centro Nacional de Transfusión Sanguínea reporta hasta un 3.5% de bolsas contaminadas con el parásito. Además, en un estudio reciente de sangre transfundida en el Hospital General de la Ciudad de México, que tiende a representar más la situación rural de nuestro país, se indica que el 17% de las bolsas de sangre están contaminadas, lo cual es alarmante cuando se compara con el 0.08% del VIH y el 0.48% de la hepatitis B.¹⁵

Hoy en día, la enfermedad de Chagas es la parasitosis más importante en México. Según el Banco Mundial, en Latinoamérica la enfermedad de Chagas es, económicamente hablando, más importante que todas las enfermedades parasitarias juntas, incluyendo paludismo, leishmaniasis y oncocercosis. De-



bido a la constante presión ejercida por los investigadores de la enfermedad, el Gobierno Federal mexicano pronto iniciará la formulación de un plan de acciones para combatirla.¹⁵

En México se estima una incidencia anual de 44,000 nuevos casos con una prevalencia actual de 1,610,000 personas infectadas (OPS, 1996). Sin embargo, no se ha diagnosticado la magnitud del problema con mayor certeza y por lo tanto no se pueden planear estrategias para intervenir en la transmisión.¹⁵ Por ejemplo, en Oaxaca se ha calculado que hay 1,874,320 individuos en riesgo de contraer la enfermedad de Chagas por transmisión vectorial, 134,280 individuos infectados con el parásito, y 40,300 casos crónicos de Chagas en el estado. Con base en estos valores se estima que el estado gasta anualmente 16,000,000 de pesos en el tratamiento de sostén de esos casos, y que el costo total de la enfermedad es de 28,747,000 dólares por años de vida ajustados por discapacidad. Afortunadamente, a través de colaboraciones interinstitucionales con los Servicios de Salud del estado de Oaxaca, en 1999 se dio inicio a un programa de Chagas a nivel estatal.¹⁵





NOTAS

TABLA I. TRIBUS, GÉNEROS Y ESPECIES DE LA SUBFAMILIA TRIATOMINAE

TRIBU	GÉNERO	NÚMERO DE ESPECIES
Alberproseniini	Alberprosenia	2
Bolboderini	Belminus	6
	Bolbodera	1
	Microtriatoma	2
	Parabelminus	2
Cavernicolini	Cavernicola	2
	Torrealbaia	1
	Psammolestes	3
Rhodniini	Rhodnius	14
	Dipetalogaster	1
Triatomini	Eratyrus	2
	Linshcosteus	5
	Panstrongylus	13
	Paratriatoma	1
	Triatoma	75

CONCLUSIÓN

La teoría del insecto-vector fue tan importante para comprender muchas enfermedades parasitarias y virales como la leishmaniasis, la tripanosomiasis africana, el paludismo, la fiebre amarilla, el dengue y otras más; además, proveyó del marco conceptual y del argumento institucional y educacional para que la medicina tropical se independizara de la bacteriología y de la medicina tradicional. La nueva ciencia trataba con enfermedades "tropicales" (en oposición a las "cosmopolitas"), las cuales eran causadas por protozoarios u organismos más complejos en lugar de bacterias o virus; finalmente la transmisión es por vectores, en contraste con la transmisión mecánica de las enfermedades bacterianas.⁹

La enfermedad de Chagas puede ser transmitida por varios mecanismos, sin embargo, la transmisión por el vector es la más importante. Observaciones directas y con modelos matemáticos, indican que el desarrollo social de las regiones endémicas podría ser suficiente para controlar la enfermedad.⁵

¹ Perleth, M., *Historical aspects of American Trypanosomiasis (Chagas' Disease)*, Peter Lang, ed., Frankfurt. 171 pp, 1997.

² Morel, C. M., Chagas disease, from discovery to control – and beyond: History, Myths and Lessons to take home, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 94, Suppl. 1: 3-16, 1999.

³ Schofield, C. J., Biosystematics and evolution of the Triatominae, *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 16(sup.2):89-92, 2000.

⁴ Zeledón, R. Vectores de la enfermedad de Chagas y sus características ecofisiológicas, *Interciencia*, 8(6):384-395, 1983.

⁵ Dias, J. C. P., Schofield, C. J., The evolution of Chagas disease (American trypanosomiasis) control after 90 years since Carlos Chagas discovery. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 94 Suppl. 1:103-121, 1999.

⁶ Stevens, J., Gibson, W., Noyes, H., Trypanosome evolution under the microscope, *Parasitology Today*, 16(7):270-271, 2000.

⁷ Stevens, J. R. et al., The ancient and divergent origins of the human pathogenic trypanosomes, *T. brucei* and *T. cruzi*, *Parasitology*, 118:107-116, 1999.

⁸ Stevens, J., Gibson, W., The molecular evolution of Trypanosoma, *Parasitology Today*, 15: 432-437, 1999.

⁹ Coutinho, M., Freire, J. O., Pinto Díaz, J. C., The noble enigma: Chagas' Nominations for the Nobel Prize, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 94, Suppl. 1:123-129, 1999.

¹⁰ Saldaña, Torales y Barreto, *Infectología Clínica*, Autores mexicanos, 1984.

¹¹ Momen, H. y Coura, J. R., *Mem. Inst. Oswaldo Cruz: First Centenary (1900-2000)*, *Parasitology Today*, 16(9):361-362, 2000.

¹² Mollenhauer, D. Founder of "Archiv für Protistenkunde": Fritz Schaudinn's Unfinished life, *Protist*, 151, 283-287, 2000.

^{12 bis} Friedrich (Fritz) Richard Schaudinn (18 sep 1871-22 jun 1906), amigo de Fritz Römer, Stanislaus von Prowazek y Max Hartmann. Fue el descubridor de la *Spirochaeta pallida* o *Treponema pallidum*, agente etiológico (causante) de la sífilis. En 1901 trabajó en espiroquetas y en diferentes protozoarios especialmente trypanosomas. En 1902, fundo la revista "Archiv für Protistenkunde" a los 30 años de edad.

¹³ Magos, L. C., et al., Banco nacional de sueros, *Sal Pub Mex*, 34(2), 1992.

^{13 bis} Díaz, E., Perrin, G. T., Brenes, M., Nota previa sobre las primeras comprobaciones serológicas de la Enfermedad de Chagas en México, *Gac. Med. Mex.* 77:180-183, 1947.

¹⁴ Castrejon, O. V., et al., Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en México, *Sal. Pub. Mex.*, 34(2), 1992.

¹⁵ Janine Ramsey, Centro de Investigaciones Sobre Enfermedades Infecciosas/INSP. revista SPM/No 5 Salvia —CHAGAS EN MÉXICO.htm

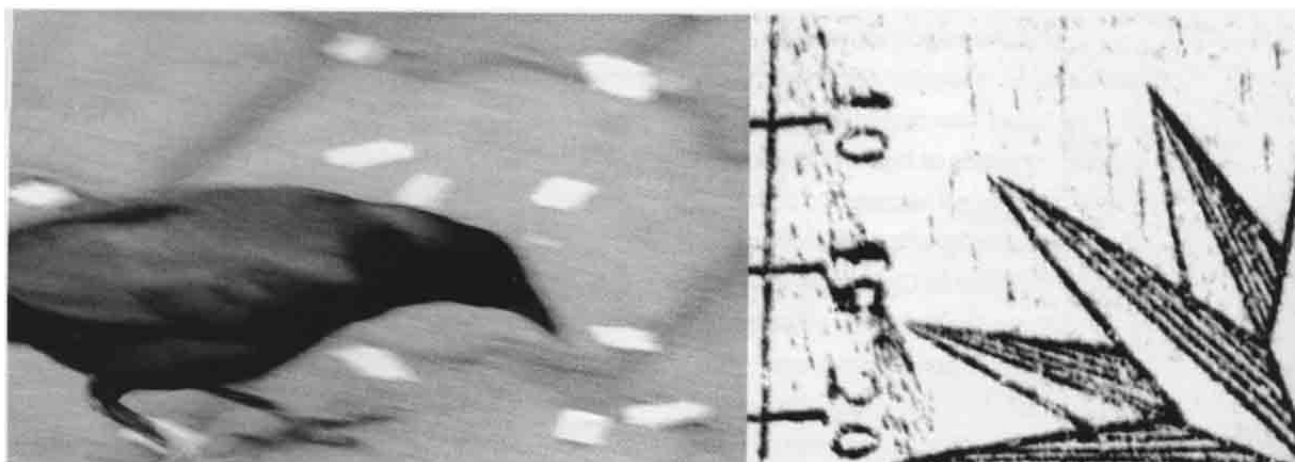
¹⁶ Biagi, F., *Enfermedades Parasitarias*, La Prensa Médica Mexicana, 1974.

¹⁷ Faust, E. C., Russell, P. F., Jung, R. C., *Parasitología Clínica*, Salvat Editores, pp. 69-122, 1974.

¹⁸ Mazzotti, L., Dos casos de enfermedad de Chagas en el Estado de Oaxaca. Nota preliminar leída en sesión del 25 de Enero de 1939, *Gac. Med. Mex.*, 417-423, 1939.

¹⁹ Tay, J y Biaggi, A. M. de B., Localidades nuevas de triatomos mexicanos y su infección natural por Trypanosoma cruzi, *Rev. Fac. Med. Mex.*, 6(5):305-311, 1964.

J. L. Imbert Palafox, A. H. Figueroa Gutiérrez y J. V. Gómez Gómez son investigadores del Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. imbextox@hotmail.com



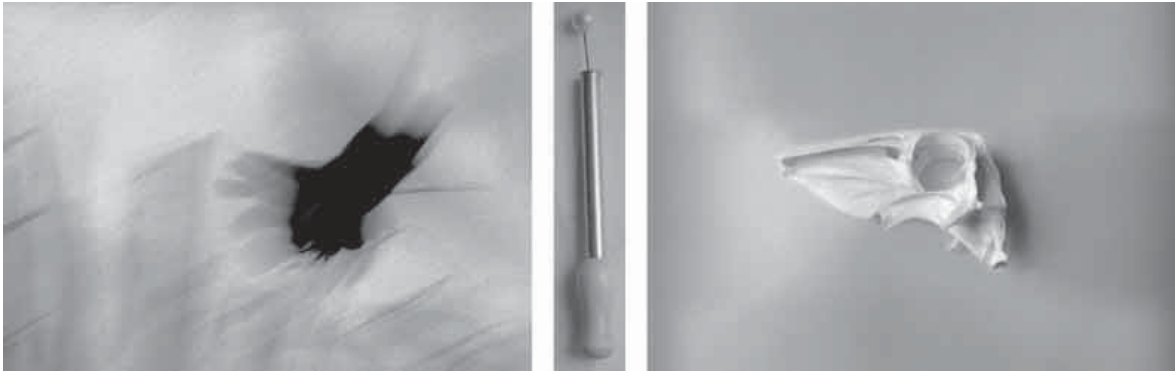
© Patricia Lagarde, de la serie *No en el aire/en el instante*.

Los micoplasmas Y Φ SIDA

María Lilia
Cedillo Ramírez
Jorge Antonio
Yáñez Santos

HISTORIA Y CARACTERÍSTICAS

Los micoplasmas fueron descritos por vez primera en 1898 por dos discípulos de Luis Pasteur, Nocard y Roux. Desde entonces, cerca de 180 especies diferentes han sido identificadas.¹ Los micoplasmas se han clasificado en la clase *Mollicutes*, el orden *Mycoplasmatales* y la familia *Mycoplasmataceae*. Esta familia cuenta con los géneros *Mycoplasma* y *Ureaplasma*.² La palabra *mollicutes* proviene del latín *mollis* que significa suave, y *cutis* que significa piel, por lo que el término *mollicutes* hace referencia a una característica distintiva de los micoplasmas que es la falta de pared celular. Otras características de estas bacterias son su pleomorfismo derivado de la carencia de pared celular, su sensibilidad a los detergentes, a los solventes orgánicos y a los cambios en la osmolaridad del medio. Son los seres vivos más pequeños que tienen vida libre, es decir, no requieren de una célula hospedera para poder sobrevivir y reproducirse. Su tamaño varía entre 0.350 y 0.650 micras de diámetro. La mayoría posee también una cantidad pequeña de material genético el cual varía de 500 a 800 Kpb, siendo los organismos con el genoma más pequeño.² Los micoplasmas pueden crecer en medios libres de células, estos medios son complejos, deben ser ricos en nutrientes como suero de caballo o suero fetal de ternera como fuente de colesterol. Aunque los micoplasmas se pueden cultivar, no se ha logrado hacer crecer un buen número de especies, por lo que se consideran microorganismos fastidiosos.²



© Patricia Lagarde, de la serie *No en el aire/en el instante*.

HÁBITATS

Los micoplasmas infectan a un gran número de especies animales y vegetales —entre las primeras destacan los artrópodos y el humano—, produciendo infecciones agudas que con frecuencia tienden a la cronicidad. Colonizan preferentemente el epitelio del aparato respiratorio y genitourinario así como las glándulas mamarias, las articulaciones y los ojos. Estas bacterias muestran una especificidad por la especie a la que infectan, es decir, que los micoplasmas que infectan de manera natural al humano no lo hacen a otras especies de animales, quizá como reflejo de sus exigencias nutricionales y de su forma de vida parásita; es más, algunos micoplasmas sólo infectan a determinados órganos o tejidos.²

Varias especies infectan al hombre, entre ellas *Mycoplasma pneumoniae*, la cual es causante de un buen número de casos de neumonía atípica primaria, pudiendo ocasionar en algunos pacientes complicaciones extrarrespiratorias como carditis, artritis, glomerulonefritis, trastornos en el sistema nervioso y en la piel.

Mycoplasma hominis y *Ureaplasma urealyticum* colonizan el aparato genitourinario y se han asociado a vaginitis inespecífica, uretritis, artritis, abortos, fiebre puerperal, neumonía e infecciones en el sistema nervioso central de recién nacidos prematuros.¹ *Mycoplasma genitalium* se aísla raramente del aparato genitourinario y respiratorio por lo que no ha sido posible asociarlo de manera definitiva a alguna enfermedad. Existen otras tres especies de micoplasma las cuales a raíz de la aparición del SIDA han cobrado gran importancia: *Mycoplasma fermentans*, *Mycoplasma penetrans* y *Mycoplasma pirum*.

RESPUESTA INMUNE

Aunque han sido estudiados de manera profunda por varios investigadores desde hace poco más de un siglo, los micoplasmas son un grupo microbiano del que, a diferencia de otras bacterias, se desconoce mucho en cuanto a su capacidad para causar daño y a los mecanismos mediante los cuales causan enfermedad en el hombre. Se sabe que pueden causar enfermedades crónicas debido a su capacidad para evadir los mecanismos de defensa del sistema inmune del hospedero. El sistema inmune es el encargado de eliminar a las bacterias en la mayoría de las infecciones pero, en el caso de las infecciones causadas por micoplasmas, las bacterias pueden alterar la respuesta inmune, induciendo una respuesta inmune exagerada o bien suprimiendo o evadiendo la misma.

En los mamíferos existen dos tipos de respuesta inmune: humoral y celular, las que están en constante interacción. La respuesta inmune humoral consiste en la estimulación de células llamadas linfocitos B para que éstas produzcan anticuerpos. Los anticuerpos son inducidos por algunos componentes de la superficie de los microorganismos los cuales son reconocidos como extraños por el hospedero. Estos anticuerpos ayudados por células fagocíticas se encargan de eliminar a una buena parte de las bacterias capaces de causarnos daño. La presencia de anticuerpos en una cantidad moderada es benéfica para el hospedero. En las infecciones causadas por micoplasmas se observa que estas bacterias son capaces de cambiar la expresión de proteínas asociadas a lípidos de su membrana celular, confundiendo al sistema inmune y evitando así la eliminación de las bacterias por la producción de anticuerpos;³ esta capacidad se conoce como variación antigénica. La superficie de los micoplasmas contiene compuestos de naturaleza glucolipídica que guardan similitud con componentes de la superficie de las células



del hombre, por ello es que en algunas infecciones causadas por estas bacterias, ellas inducen la producción de anticuerpos contra células propias (autoanticuerpos) como las del cerebro, pulmón, riñón o articulaciones provocando en algunos casos enfermedades autoinmunes. *Mycoplasma pneumoniae* causa infecciones respiratorias, induciendo en algunos hospederos susceptibles la producción de autoanticuerpos contra diversas células y, después de 3 o 4 semanas de la infección respiratoria, se pueden presentar complicaciones extrarrespiratorias tales como artritis, carditis, glomerulonefritis o complicaciones en el sistema nervioso central. Los micoplasmas pueden también inducir una respuesta inmune celular la cual puede ser responsable de algunos de los signos y síntomas de la enfermedad. Los micoplasmas pueden causar una supresión del sistema inmune. Un mecanismo por el cual pueden suprimir este sistema es por el consumo de nutrientes.⁴ Algunos micoplasmas obtienen su energía rompiendo un aminoácido llamado arginina; este aminoácido es un nutriente esencial para el crecimiento de las células, entre ellas las del sistema inmune. Cuando los micoplasmas—en particular *M. hominis*, o alguno otro capaz de hidrolizar la arginina—crecen, pueden agotar este nutriente, impidiendo que las células inmunes proliferen y monten una respuesta adecuada en contra de una infección bacteriana. Algunos componentes de las membranas de los micoplasmas pueden ejercer un efecto tóxico (citotoxicidad) sobre las células del sistema inmune; este efecto se ha observado cuando se inyectan algunos componentes de la membrana de *M. fermentans* en un ratón, causando la muerte de las células linfoides del timo del animal.⁵ Un efecto similar se ha observado para componentes de *M. fermentans* cepa *incognitus* y *M. penetrans* sobre linfocitos T de humanos. *Mycoplasma penetrans* puede adherirse y penetrar diferentes tipos de células humanas y animales, entre ellas los linfocitos T involucrados en la respuesta inmune celular. Una vez que penetran pueden causar daño a las células por diversos mecanismos y, con ello, suprimir la respuesta inmune del hospedero.⁶ Algunos micoplasmas pueden incluso suprimir el sistema inmune de manera directa, tal es el caso de *Mycoplasma pneumoniae*; en pacientes que han sufrido una infección respiratoria reciente se ha observado que son incapaces de producir anticuerpos contra otras bacterias (anergia). Este estado de anergia es transitorio.⁷

Los micoplasmas pueden también sobreestimar la respuesta inmune. Se ha observado que algunos micoplasmas estimulan una proliferación exagerada de los linfocitos B y T (responsables de la inmunidad humoral y celular respectivamente), esta característica es conocida como mitogenicidad; la estimulación para que proliferen los linfocitos puede ser específica o inespecífica, característica observada en *M. fermentans*, *M. penetrans* y *M. pneumoniae*.⁸

MICOPLASMAS ASOCIADOS AL SIDA

El SIDA fue descrito como una entidad clínica hace aproximadamente 20 años. Este síndrome se caracteriza por una inmunosupresión (disminución de la respuesta inmune) y el desarrollo de varias infecciones causadas por microorganismos oportunistas, o sea, aquellos que en un hospedero con una respuesta inmune adecuada no causan daño, pero en una persona que presente fallas en la respuesta inmune pueden causar graves problemas e incluso la muerte. Los pacientes con SIDA tienen disminuida la cantidad de una subpoblación de linfocitos denominada CD4+ y sufren al mismo tiempo de un mal funcionamiento de varios órganos (sistema nervioso central, corazón, hígado, riñón) y desarrollan un tipo poco común de tumores conocidos como sarcoma de Kaposi, linfoma de células B y enfermedad de Hodgkin.⁹ En personas con un sistema inmune funcional (normal) los microorganismos oportunistas pasan inadvertidos, sin embargo en pacientes con una deficiencia en el mismo, causan infecciones graves que incluso pueden conducir a la muerte. Entre los microorganismos que encontramos con mayor frecuencia en pacientes con SIDA están *Pneumocystis carinii*, *Toxoplasma gondii*, *Mycobacterium avium-intracellulare*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Histoplasma capsulatum*, *Candida sp*, *Cryptosporidium sp*, y citomegalovirus.⁹

Poco tiempo después de la aparición de los primeros casos de SIDA se descubrió un retrovirus, el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1), el cual se reconoce como el agente causal del SIDA.¹⁰ A pesar de que este virus ha sido recuperado de los cultivos de células mononucleares de pacientes con SIDA, existen dudas sobre la capacidad del virus para causar la enfermedad por sí mismo. Si bien es cierto que el virus al cultivarse en linfocitos CD4+ de origen humano puede causar daño celular y muerte de los mismos, todavía no se sabe si el VIH-1 es el único causante de la



© Patricia Lagarde, de la serie *No en el aire/en el instante*.

destrucción de diferentes células y de la falla funcional de varios sistemas que se presenta en los pacientes con SIDA. Por qué el periodo de incubación del SIDA varía de unos cuantos meses a más de 10 años y por qué los anticuerpos contra VIH-1 no protegen del todo contra la enfermedad,⁹ son preguntas que aún no se pueden contestar.

Otro hecho importante es que aun cuando el paciente presente ya signos y síntomas del SIDA, sólo pocas células se encuentran infectadas por el virus. Todos estos hechos pudieran sugerir la existencia de un cofactor en el SIDA.⁹ Este cofactor podría ser otro agente microbiano capaz de abatir también la respuesta inmune, causar daño celular y desencadenar el síndrome de inmunodeficiencia. Entre los candidatos a cofactores del SIDA se encuentran los micoplasmas y, en particular, *Mycoplasma fermentans* y *Mycoplasma penetrans*.

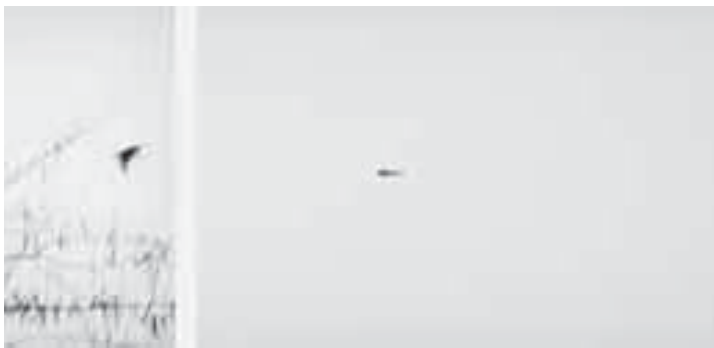
MYCOPLASMA FERMENTANS

Este micoplasma fue aislado por primera vez del tracto urogenital del humano hace 50 años, sin embargo se pensó que era parte de la flora normal y rara vez se pudo aislar, quizá porque el microorganismo es fastidioso y los medios hasta entonces usados eran poco eficaces para su aislamiento. En la década de los setenta se describió el aislamiento de *M. fermentans* de la médula ósea de pacientes con y sin leucemia; además, el microorganismo era capaz de inducir una enfermedad leucemoide cuando se inoculaba a roedores de manera experimental.¹¹ Durante esta década también se reportó la presencia de la bacteria en el líquido sinovial de pacientes con artritis reumatoide.¹² A pesar de estos hallazgos que sugerían el papel de *M. fermentans* como causante de diversas enfermedades en el hombre, esta bacteria permaneció olvidada, prácticamente considerada como un ais-

lamiento raro en humanos hasta la aparición del SIDA. Este hecho no es una coincidencia, más bien se conjuntaron varios factores: el aislamiento continuo de la bacteria de infecciones sistémicas de pacientes con y sin SIDA y el desarrollo de técnicas modernas de biología molecular que permiten hacer el diagnóstico acertado de microorganismos fastidiosos como *M. fermentans*.

La historia moderna de *M. fermentans* se remonta a los hallazgos de Lo y colaboradores, quienes describen la presencia de un agente semejante a un virus a partir de transfección de células NIH 3T3 con DNA proveniente del tejido de un paciente con sarcoma de Kaposi que tenía SIDA. Este agente, después de una serie de pruebas, fue reconocido como un micoplasma ahora llamado *Mycoplasma fermentans* cepa *incognitus*.¹³ Después de este hallazgo se realizaron un buen número de estudios en los que se intentó detectar a *Mycoplasma fermentans* en pacientes con SIDA. En uno de los primeros estudios se encontró a la bacteria en los nódulos linfáticos, en las células reticuloendoteliales, en los macrófagos y en el cerebro.¹⁴

En un grupo de personas homosexuales, personas que usan drogas por la vía intravenosa y pacientes pediátricos con SIDA que recibieron transfusiones, se detectó a *M. fermentans* en diversos tejidos. También se ha encontrado a esta bacteria en la placenta de mujeres embarazadas con SIDA. En algunos pacientes con SIDA se observa disfunción en varios órganos y sistemas incluyendo el sistema inmune, el sistema hematopoyético, el cerebro, el corazón, el hígado, las articulaciones, el tracto gastrointestinal y el riñón; en estos órganos sólo se ha encontrado una infección oculta por *M. fermentans*.¹⁵ En otro estudio se buscó a *M. fermentans* en tejido renal de pacientes con SIDA con falla renal y sin falla renal, *M. fermentans* sólo fue detectado en el riñón de pacientes con daño renal.⁹ El hecho de aislar a *M. fermentans* de pacientes con SIDA sugeriría que la bacteria no fuese



un cofactor sino un simple microorganismo oportunista; sin embargo, el aislamiento de *M. fermentans* de la sangre y la orina de pacientes con SIDA, su detección por diferentes técnicas inmunológicas y de biología molecular en diversos tejidos de pacientes con SIDA en diferentes estadios, la habilidad de la bacteria para estimular a linfocitos CD4+ y otras actividades inmunomoduladoras, así como la acción sinérgica en la que la bacteria junto con el VIH incrementan el efecto citopático sobre los linfocitos CD4+, sugieren que esta bacteria pudiera ser un cofactor en el SIDA.

MYCOPLASMA PENETRANS

Este micoplasma fue aislado por vez primera de la orina de pacientes con SIDA en 1991. Es capaz de penetrar el citoplasma de un gran número de células de mamíferos,^{16,17} lo cual produce la muerte en las células que infecta. Se ha observado una elevada prevalencia de anticuerpos contra este microorganismo (40%) en el suero de pacientes con SIDA, mientras que en personas sin SIDA hay una baja incidencia (0.3%), así como en pacientes con otras enfermedades de transmisión sexual (0.9%).⁹

Se ha observado que los linfocitos de pacientes con SIDA sufren de apoptosis (muerte celular programada) *in vitro*. El mecanismo de la apoptosis aún no se conoce, pero aparentemente no se debe al VIH-1. Montagnier sugiere que los micoplasmas pudieran inducir la apoptosis de células CD4+ actuando como superantígenos en pacientes con SIDA, induciendo una supresión del sistema inmune. Todos estos estudios sugieren que tanto *M. fermentans* como *M. penetrans* pudieran actuar como cofactores del SIDA, sin embargo es necesario realizar un mayor número de estudios, quizá utilizando modelos animales que pudieran probar de manera inequívoca el papel de estos micoplasmas en el SIDA.

NOTAS

¹ Razin, S., Yogev, D. y Naot, Y., Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas, *Microbiology and Molec. Biology Reviews*, núm. 4, vol. 62, pp.1094-1136, 1998.

² Razin, S., *Mycoplasma Taxonomy and Ecology*, en *Mycoplasmas. Molecular Biology and Pathogenesis*, Maniloff, J., ed., American Society for Microbiology Washington D. C., pp. 3-22, 1992.

³ Roske, K., Blanchard, A., Chambaud, I., Citti, C., Helbig, J. H., Prevost, M., Rosengarten, R. y Jacobs, E. Phase variation among major surface antigens of *Mycoplasma penetrans*, *Infect Immun*, vol. 69, pp. 7642-7651, 2001.

⁴ Sugimura, K., Ohno, T., Kimura, Y., Kimura, T., Azuma I., Arginine deiminase gene of an AIDS-associated mycoplasma, *Mycoplasma incognitus*, *Microbiol. Immunol.*, vol. 36, pp. 667-670, 1992.

⁵ Gabridge, M. G., Abrams, G. D. y Murphy, W. H., Lethal toxicity of *Mycoplasma fermentans* for mice, *J. Infect. Dis.*, vol. 125, pp. 153-160, 1972.

⁶ Lo, S. C., Hayes, M. M., Kotani, H., Pierce, P. F., wear, D. J., Newton, P. B., Tully, J. G y Shih, J. W., Adhesion onto and invasion into mammalian cells by *Mycoplasma penetrans*: a newly isolated mycoplasma from patients with AIDS, *Mol. Pathol.*, vol. 6, pp. 276-280, 1993.

⁷ Biberfeld, G., *Infection sequele and autoimmune reactions in Mycoplasma pneumoniae infection*, en *The mycoplasmas vol IV. Mycoplasma pathogenicity*, Razin, S., Barile, M. F., eds., Academic Press, Inc, Orlando, Florida, pp. 293-311, 1985.

⁸ Simecka, J. W., Ross S. E., Cassell, G. H. y Davis J. K., Interactions of mycoplasmas with B cells: antibody production and nonspecific effects, *Clin. Infect. Dis.*, suppl. 1, vol.17, pp. S176-S182, 1993.

⁹ Lo, S. Ch., Mycoplasmas and AIDS, en *Mycoplasmas Molecular Biology and Pathogenesis*, Maniloff, J., ed., American Society for Microbiology, Washington D. C., pp. 525-545, 1992.

¹⁰ Barré-Sinoussi, F. Chermann J. C., Rey, F., Nugeyre, M. T., Chamaret, S., Gruest, J., Dauguet, C., Axler-Blin, C., Vezinet-Brun, F., Rou Zloux, C., Rozenbaum, W. y Montagnier L., Isolation of a T-lymphotrophic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS), *Science*, vol. 220, pp. 868-870, 1983.

¹¹ Plata, E. J., Abell, M. R. y Murphy W. H. Induction of leukemoid disease in mice by *Mycoplasma fermentans*, *J. Infect. Dis.*, vol. 128, pp. 588-597, 1973.

¹² Steward, E. M., Duthie, J. J., Mackay, M. K., Marmion, P., y Alexander, R. M., *Mycoplasma* and rheumatoid arthritis, *J. Rheum. Dis*, vol. 33, pp. 346-352, 1974.

¹³ Lo, S-C., Dawson, M. S., Wong, D. M., Newton, P. B., Sonoda, M. A., Engler, W. F., Wang, R. Y-H., Shih, W-K., Alter, H. J. y wear, D. J., Identification of *Mycoplasma incognitus* infection in patients with AIDS: an immunohistochemical, in situ hybridization and ultrastructural study, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, vol. 41, pp. 601-616, 1989.

¹⁴ Lo, S-C., Shih, J. R., Wear, D. J., y Wang, Y-H., Virus-like infectious agent (VLIA) is a novel pathogenic mycoplasma: *Mycoplasma incognitus*, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, vol. 41, pp. 586-600, 1989.

¹⁵ Lo, S-C., Shih, J. W-K., Yang, N. Y., Ou, C. Y. y Wang, Y-H. A novel virus-like infectious agent in patients with AIDS, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, vol. 40, pp. 213-226, 1989.

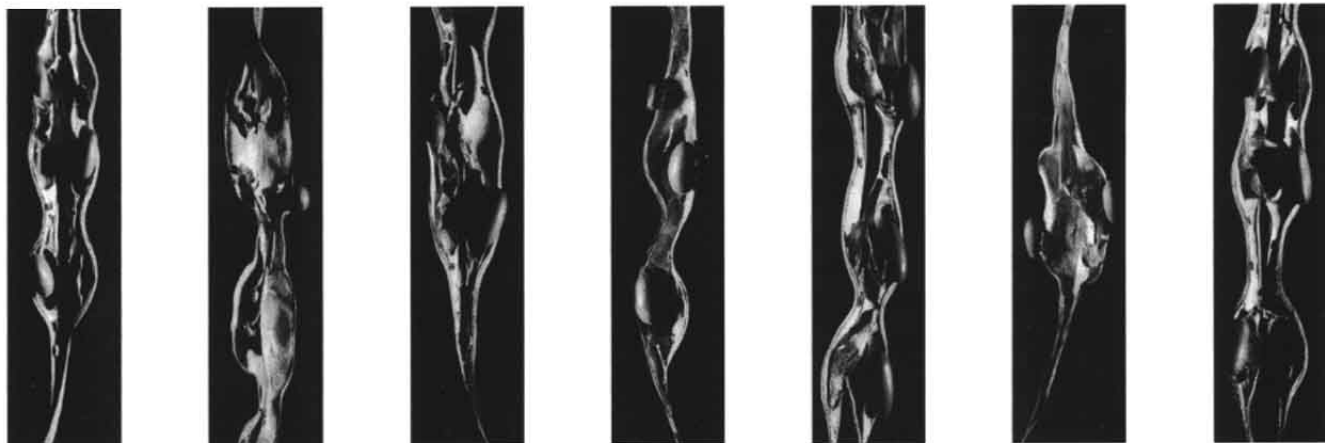
¹⁶ Lo, S-C., Hayes, M. M., Wang, R. Y-H., Pierce, P. F., Kotani, H. Y Shih, J. W.-K. Newly discovered mycoplasma isolated from patients infected with HIV, *Lancet*, vol. 338, pp.1415-1418, 1991.

¹⁷ Lo, S.-C., Hayes, M. M., Tully, J. G., Wang, R. Y-H., Kotani, H., Pierce, P. F., Rose, D. L. y Shih, J. W-K. *Mycoplasma penetrans* sp. Nov. from the urogenital tract of patients with AIDS, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, vol.42, pp.357-364, 1992.

María Lilia Cedillo Ramírez es investigadora del Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas del ICUAP. Jorge Antonio Yáñez Santos pertenece al Laboratorio de Microbiología Oral, Facultad de Estomatología, BUAP.



© Patricia Lagarde, de la serie *De la clasificación de los seres*.



© Patricia Lagarde, de la serie *Herbolaria*.

Patricia

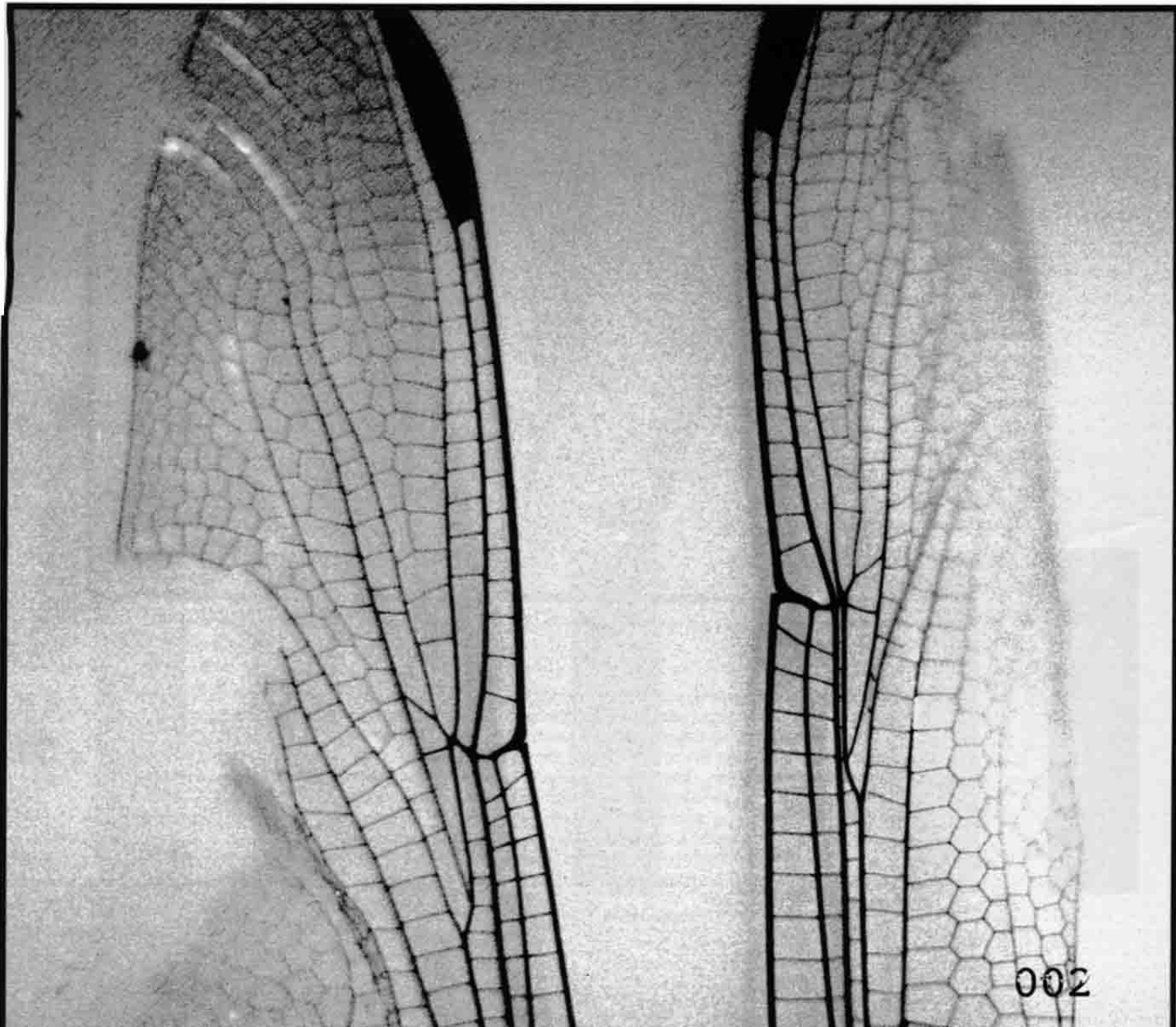
L a g a r d e



© Patricia Lagarde, de la serie *De la clasificación de los seres*.

PATRICIA LAGARDE. Ciudad de México, 1961. Realiza estudios en Comunicación y Diseño Gráfico en la Universidad Iberoamericana, en Fotografía en la Escuela Activa, así como talleres con Manolo Laguillo, Keith Carter, Beatriz Novaro, Gabriel Figueroa F., Julio Galindo, Jesús Sánchez Uribe, Daniel Kazimierski, en el Centro de la Imagen, entre otras instituciones y talleres. Desde 1994 ha llevado a cabo exposiciones individuales en México en la Galería Emma Molina, Monterrey, N. L., The Gallery, Galería Mont-Ugalde, D. F., Centro Universitario, UAQ, Querétaro, Galería Enrique Romero, D. F., entre otros, y en el extranjero en C. Lowicka, Varsovia, Polonia, Lithuanian National Commission for UNESCO, Vilnius, Lithuania, Budakaláz, Budapest, Hungría, Debrecen, Hungría, Galería Occurrence, Montreal, Canadá. Colectivamente ha participado en más de 15 muestras en México, Austria y en Finlandia. Le es otorgada la beca de Jóvenes Creadores, FONCA, 1995. En 1997 publica el libro-objeto *Desierto*, Ciudad de México. En 1998 publica el libro *No en el aire / en el instante*, Ciudad de México, Ed. Sámara, CONACULTA-FONCA, México, D. F. Recibe la Beca de Coinversión del FONCA, para coeditar con Artes de México el libro *Herbarium*, 2000. En 2001, le es otorgada la beca del Sistema Nacional de Creadores. lagardepatricia@hotmail.com

© Patricia Lagarde, de la serie *De la clasificación de los seres*.



002

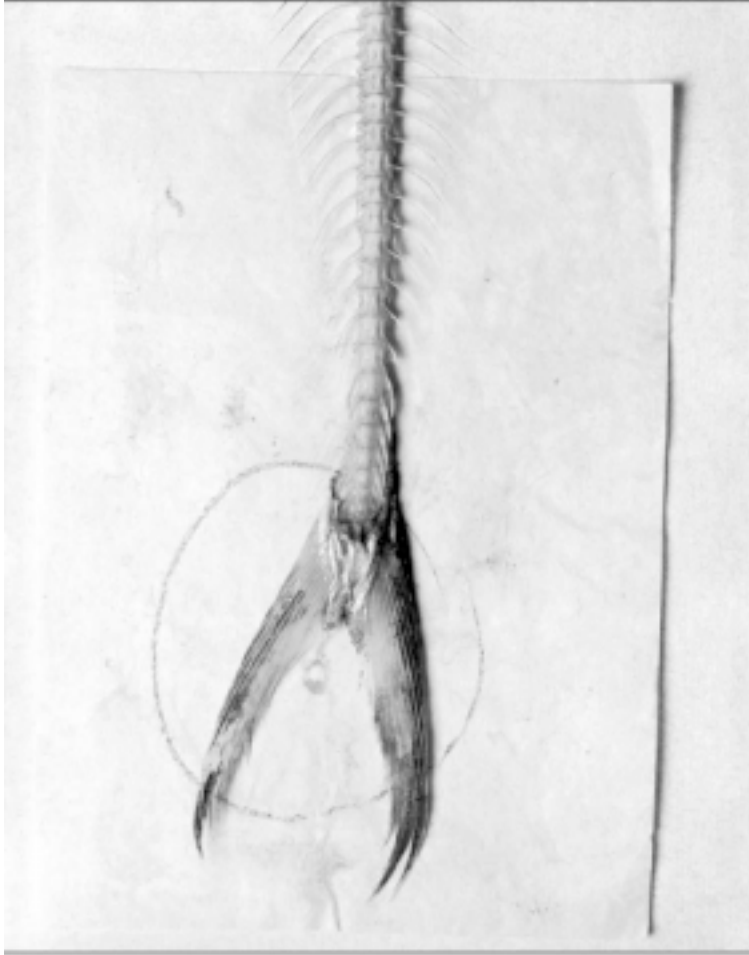
El virus de la inmunodeficiencia humana

Alejandro
Ruiz-Argüelles

La epidemia de la enfermedad que hoy conocemos como Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) fue identificada como tal en el año de 1981, aunque hay evidencias que indican que la diseminación del agente causal –el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)– empezó a ocurrir en la década de los cincuenta, es decir, casi tres décadas antes de que la prevalencia de la infección sintomática llamara la atención de los médicos especialistas en muy diversas disciplinas.

Hoy, veinte años después de la descripción del SIDA, ésta se ha convertido en la enfermedad más devastadora a la que se ha enfrentado la especie humana. Desde el inicio de la epidemia, más de 60 millones de personas se han infectado por el VIH. Actualmente es la primera causa de muerte en África subsahariana y la cuarta en el ámbito mundial. A finales del año 2001 se estimaba que había 40 millones de personas viviendo con el VIH. En muchas partes del mundo en desarrollo, la mayoría de nuevas infecciones ocurren en adultos jóvenes, con aumento creciente de la prevalencia en mujeres jóvenes. Aproximadamente una tercera parte de las personas que actualmente viven con el VIH tienen entre 15 y 24 años de edad, y la mayoría de ellas desconocen que son portadoras de la infección. Muchos millones de seres humanos ignoran por completo o saben muy poco del VIH y, por ende, de lo que pueden hacer para protegerse de esta enfermedad.

A pesar de los esfuerzos de organizaciones oficiales y no gubernamentales, casi en todos los países del mundo, para detener la diseminación de esta infección, su crecimiento sigue siendo alarmante. Se estima que durante el año 2001 se contagiaron 9.7 personas por cada minuto transcurrido. No hay ningún indicador de que esta cifra se haya reducido en el 2002 ya que, si bien es cierto que las



© Patricia Lagarde, de la serie *De la clasificación de los seres*.

medidas de información y educación han mejorado su alcance y eficiencia, la cantidad de personas capaces de contagiar a otras es mucho mayor.

El agente causal de esta infección es un retrovirus de la familia conocida como *Lentiviridae*, cuyo origen ha motivado toda clase de especulaciones y conjeturas. El análisis filogenético del VIH, es decir, el estudio retrospectivo de su evolución, permite aseverar que se originó a partir de un ancestro común a los virus que causan inmunodeficiencia en monos, y que se han logrado aislar de animales salvajes, descartando así la tan debatida participación del hombre en la creación de este agente infeccioso.

La manera como este virus causa enfermedad es a través de infectar y eventualmente destruir, primordialmente, a un tipo de células del sistema inmune conocidas como linfocitos TCD4+. Los linfocitos TCD4+ tienen una función central en el desarrollo de las respuestas inmunitarias contra agentes infecciosos; pero no sólo se involucran en el reconocimiento de los agentes infecciosos, sino que también estimulan y coordinan la actividad de todas las células accesorias y efectoras de la inmunidad. De alguna manera, este compartimiento celular



se ha comparado con el director de una sinfónica, ya que el resto de los elementos de la inmunidad –que serían los músicos– obedecen en armonía las señales de las células TCD4+. Al destruirse éstas, el sistema inmune se vuelve anárquico y, aunque puede demostrarse la integridad de muchas de sus funciones efectoras –como la producción de anticuerpos–, la respuesta ante otros organismos patógenos simplemente no es eficiente. Así, en pacientes en quienes ya se han destruido una gran cantidad de células TCD4+, concurren infecciones por gérmenes oportunistas y se desarrolla el cuadro florido del SIDA. Como gérmenes oportunistas se conocen a todos aquellos microorganismos de baja o nula virulencia que en las personas sanas causan, si acaso, infecciones banales; sin embargo, en estos pacientes, o en los afectados por otras inmunodeficiencias, producen formas graves de enfermedad.

Las infecciones que caracterizan al paciente con SIDA son la candidiasis en las vías respiratorias y el esófago, el *Herpes zoster* recurrente, la listeriosis, nocardiosis y criptococosis extrapulmonar, la coccidioidomicosis diseminada, la criptosporidiosis intestinal que dura más de un mes, la infección por el virus citomegálico fuera del bazo, hígado y ganglios linfáticos, formas diseminadas de *Herpes simple*, histoplasmosis diseminada, infecciones por *Mycobacterium avium* y *Mycobacterium kansasii*, la neumonía por *Pneumocystis carinii*, y la toxoplasmosis cerebral. Aun cuando no es una infección oportunista, la tuberculosis se considera como una infección asociada al SIDA pues, antes del inicio de la pandemia, prácticamente ya se había erradicado en el ámbito mundial.

Amén de las infecciones oportunistas, existe una serie de datos clínicos que permiten establecer el diagnóstico del SIDA, como lo es la pérdida involuntaria de peso de más del 10%, la presencia de diarrea o fiebre por más de un mes y el crecimiento generalizado de los ganglios linfáticos. Los pacientes además presentan tumores, aparentemente también secundarios a procesos infecciosos, como ciertos tipos de linfomas y el característico sarcoma de Kaposi.

Las manifestaciones antes mencionadas se observan en los pacientes con la forma franca de la infección, el SIDA propiamente dicho, y a través de ellas es relativamente sencillo identificar y diagnosticar a estos pacientes. De hecho, la sintomatología tan florida de la enfermedad hace improbable que las personas con esta forma de la infección sean responsables del contagio de otros individuos. El problema más



grave, desde el punto de vista epidemiológico y social, es que por cada individuo con la forma franca de la infección, existen de tres a cuatro personas, cuando menos, que están infectadas por el virus, que no tienen manifestaciones clínicas, que las más de las veces ignoran estar infectadas, pero que sí son capaces de transmitir la infección a sujetos sanos.

Las personas asintomáticas infectadas por el VIH son las primordialmente responsables de la diseminación de la epidemia, máxime cuando son ignorantes de su situación, de cuáles son los factores de riesgo y los mecanismos de transmisión de la enfermedad, dado que no adoptan cambios en su conducta sexual, ni en su actitud hacia la donación de sangre.

En esta etapa de la enfermedad, la infección sólo es detectable mediante exámenes de laboratorio que, en su mayoría, buscan anticuerpos contra el VIH en la sangre, cuya presencia indica la exposición a este virus. Las pruebas para investigar estos anticuerpos son de dos tipos y deben hacerse en forma secuencial. En primera instancia, en individuos con factores de riesgo, está indicada la realización de pruebas de escrutinio o tamizaje, de las que la más conocida es la prueba conocida con el acrónimo de ELISA, que corresponde a las siglas en inglés del método que se usa para su investigación (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay), pero que no es sinónimo –como popularmente se emplea– de un examen para detectar el SIDA. Las pruebas de escrutinio se emplean para descartar la infección, por lo que un resultado negativo permite afirmar, con una certeza mayor al 98%, que el sujeto no está infectado por el VIH. El resultado positivo, sin embargo, lejos de considerarse como diagnóstico de infección, indica la necesidad de ratificar el resultado y, de ser repetidamente positivo, de proceder a realizar una prueba confirmatoria. El resultado positivo de la prueba confirmatoria sí establece el diagnóstico de infección por el VIH. En ocasiones excepcionales, o circunstancias especiales, pueden requerirse otras pruebas –como la investigación de antígenos o genes del VIH– para establecer el diagnóstico de infección de manera definitiva.

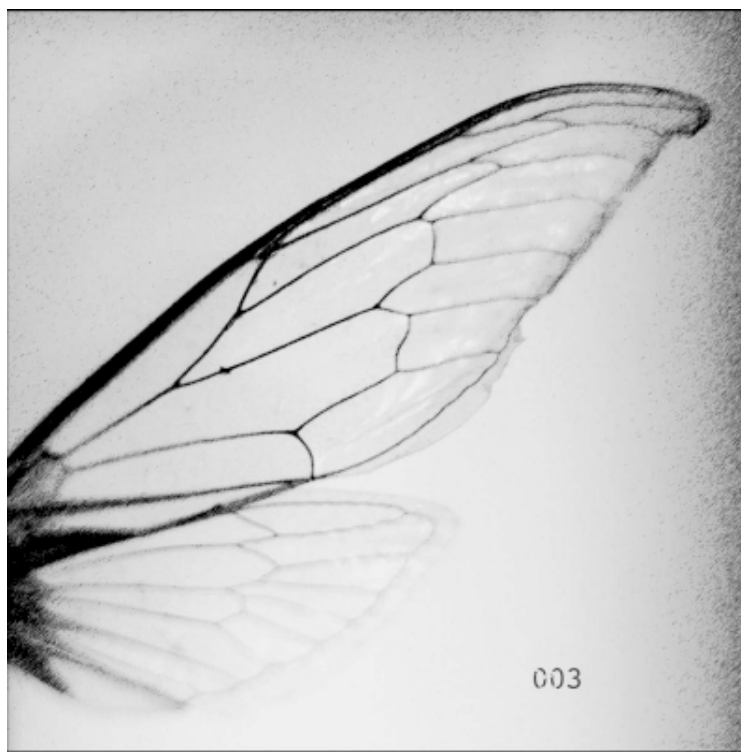
Respecto a los factores de riesgo para contraer la infección, sin duda la promiscuidad sexual, sin importar las preferencias individuales, es la que ocupa el primer lugar. El uso de drogas de administración endovenosa, por el hecho de que suelen compartirse jeringas y agujas para su administración, que no por el uso en sí mismo, es un antecedente común en

países donde el consumo de este tipo de sustancias es frecuente. Las transfusiones, primordialmente si fueron recibidas en forma frecuente y antes de que se normara la investigación del VIH en la sangre transfundida, lo que ocurrió en México en el año de 1985, son también factores importantes de riesgo. Resulta obvio entonces mencionar que las vías de transmisión más frecuentes son la sexual y la sanguínea, aunque es necesario agregar que también se transmite la infección de manera perinatal –de madre a hijo– en el embarazo y durante el parto; y también puede una madre transmitir la infección a un menor por alimentarlo al seno materno. Los injertos de órganos vascularizados como los riñones, el hígado y la piel; así como la reutilización de instrumentos quirúrgicos no estériles, tienen la capacidad de transmitir la infección en la medida que pueden acarrear sangre contaminada con el VIH.

Entre los trabajadores de los servicios de salud puede adquirirse la infección por contaminación accidental de heridas o abrasiones con sangre contaminada. No se ha documentado la infección de personal de salud por exposición a saliva de pacientes afectados por VIH. La convivencia familiar o laboral con un paciente infectado por el VIH no aumenta el riesgo de adquirir la enfermedad.

El tratamiento de los pacientes infectados por el VIH debe ser responsabilidad de un médico infectólogo o un especialis-

© Patricia Lagarde, de la serie *De la clasificación de los seres*.





© Patricia Lagarde, de la serie *De la clasificación de los seres*.

ta en medicina interna que tengan, en ambos casos, experiencia en el seguimiento y manejo de estos pacientes. La gravedad de la infección y los factores que permiten predecir su curso, se pueden establecer sobre la base de los resultados de ciertos exámenes especiales de laboratorio. La carga viral mide, por diversos métodos, la cantidad de copias del VIH que una persona tiene en su sangre, y se le considera como el mejor indicador de la respuesta a los tratamientos específicos para la infección por VIH. El recuento de células TCD4+, por su parte, es una medida del efecto que la infección viral ha causado en el sistema inmunitario. El médico tratante debe conocer con exactitud la interpretación de estos resultados, así como la frecuencia con que debe repetirse cada una de estas pruebas. Al integrar la información de ambas pruebas, con datos adicionales de carácter clínico, el médico estará en capacidad de decidir sobre cambios en el tratamiento antiviral, así como sobre la necesidad de instalar medidas terapéuticas adicionales para prevenir las infecciones oportunistas que caracterizan al padecimiento. Deberá, además, estar capacitado para detectar puntualmente la presencia de complicaciones y actuar en consecuencia de la manera más eficaz y oportuna. En las etapas terminales deberá ser capaz de auxiliar al paciente para que su tránsito hacia la muerte sea, en todo lo posible, con el menor dolor, con la menor angustia y con la mayor dignidad.



El panorama que se presenta hoy al médico tratante y al paciente con VIH/SIDA es, sin duda, mucho más optimista de lo que era hace apenas algunos años. En los primeros años de la epidemia la infección se consideraba una enfermedad inevitablemente mortal, mientras que en la actualidad es considerada por los expertos como un padecimiento con gran potencial de tratamiento a largo plazo.

En un tiempo relativamente corto, de no disponer de ningún medicamento diseñado para combatir este virus, se cuenta ya con un arsenal amplio de fármacos que actúan contra el VIH en distintos niveles. En primer término se encuentran los inhibidores de la transcriptasa reversa –la enzima que el virus utiliza para copiar sus genes antes de integrarse en el genoma de la célula que infecta–, algunos de los cuales son nucleósidos que “engañan” a la enzima (Zidovudina, Zalcitabina, Didanosina, Lamivudina, Stavudina y Abacavir), mientras que otros lo hacen por mecanismos diferentes (Nevirapina, Delavirdina y Efavirenz). El segundo grupo de medicamentos está dirigido a inhibir las proteasas que se requieren para ensamblar nuevos virus (Indinavir, Ritonavir, Saquinavir y Nelfinavir), de modo que los tratamientos más eficientes se logran mediante las combinaciones de tres o cuatro de estos fármacos. Estos medicamentos son de costo elevado por lo que los tratamientos más eficientes que combinan varias drogas difícilmente pueden administrarse a la generalidad de los pacientes.

El tratamiento de estos pacientes no se limita a inhibir la replicación y ensamble de los virus en las células infectadas, sino que además comprende el manejo de las infecciones oportunistas y de las muy diversas complicaciones clínicas que pueden presentarse en estos pacientes, que afectan el tubo digestivo, el hígado y las vías biliares, los pulmones, el sistema nervioso, la piel y mucosas de la boca y los órganos genitales, los ojos, el sistema músculo esquelético, los riñones, el sistema cardiovascular, las glándulas endocrinas y el sistema hematológico, incluyendo los procesos de coagulación. El paciente puede sufrir alteraciones psicológicas de gravedad diversa.

Por lo anterior, en el manejo integral del paciente con VIH/SIDA, es idónea la participación de un grupo multidisciplinario de especialistas, como la que suelen ofrecer las instituciones médicas de tercer nivel. No es aconsejable que un enfermo con VIH/SIDA sea tratado íntegramente por un solo

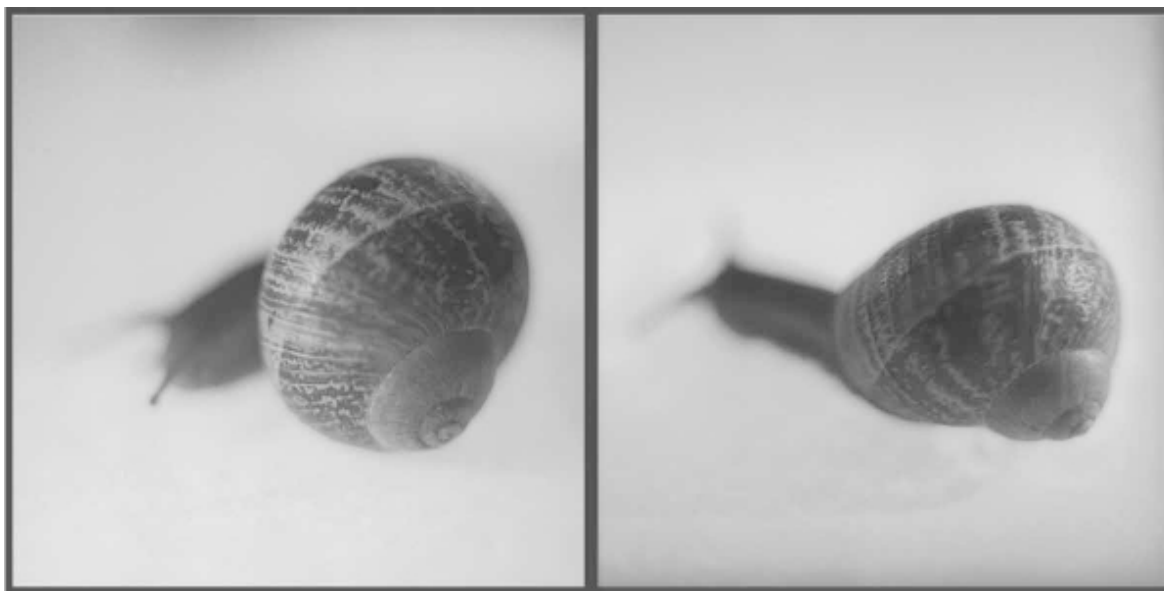


médico, ya que es frecuente que se haga necesaria la intervención de otro u otros especialistas, de acuerdo con las manifestaciones clínicas que se presenten en cada caso. El apoyo de la medicina de laboratorio es crucial no sólo para vigilar la progresión del padecimiento y normar las conductas terapéuticas antivirales, sino también para la detección oportuna de las complicaciones, la determinación de los patrones de resistencia a fármacos antimicrobianos y la evaluación de la respuesta a los esquemas de tratamiento instituidos. Con este tipo de conducta, el enfermo con VIH/SIDA no sólo consigue tener una sobrevida más prolongada, sino que obtiene una mucho mejor calidad de vida.

Lamentablemente, la desinformación y la inaccesibilidad al tratamiento para muchos pacientes con VIH/SIDA, han sido aprovechadas por individuos sin escrúpulos que ofrecen toda clase de “curaciones mágicas” para estos enfermos quienes, orillados por la desesperación, se someten a estos “tratamientos” carentes de fundamento científico que, lejos de ofrecerles beneficio alguno, retrasan la instalación de un tratamiento adecuado y verdaderamente útil. La gama de “curas alternativas” es tan amplia como la imaginación de sus inventores y en algunas instancias –como la del calentamiento de la sangre para matar el virus, que un médico norteamericano vino a poner en práctica en un prestigioso hospital de la Ciudad de México– han provocado la muerte prematura de los pacientes.

Merece un comentario la reprochable actitud que muchas personas, desinformadas o prejuiciosas, adoptan hacia los pacientes con VIH/SIDA. Conductas que pueden ir desde la desaprobación hasta el franco repudio ante un condiscípulo o un compañero de trabajo que padece la enfermedad. Actitudes que marginan a quienes lamentablemente han sido infectados –por cualquiera de las vías de contagio– y que no logran sino empeorar su ya descalabrado estado emocional. Pero entre todas ellas, la que debe considerarse definitivamente imperdonable es la de algunos médicos que se niegan a atender a los pacientes infectados por VIH/SIDA. La única razón válida para no intervenir en el cuidado de un paciente debe ser la aceptación de nuestra propia ignorancia o impericia; de otro modo, incurrimos en negligencia. También muy lamentables y reprochables son las faltas a la confidencialidad en las que incurrir muchos médicos cuando, habitualmente por intereses nada éticos, informan detalles específicos del estado de salud de sus pacientes a empresas aseguradoras o instancias semejantes.

Para enfatizar estos últimos puntos, se justifica reproducir aquí la Carta de los Derechos Generales de los Pacientes, documento que fue inicialmente redactado por la Comisión Nacional de Arbitraje Médico, la Subsecretaría de Innovación y Calidad de la Secretaría de Salud, la Comisión Nacional de Bioética, la Comisión Nacional de Derechos Humanos, la Federación Nacional de Colegios de la Profesión Médica, la Dirección de Prestaciones Médicas del IMSS, la Subdirección General Médica del ISSSTE, la Comisión Interinstitucional de Enfermería y la Dirección General de Asuntos Jurídicos de la Secretaría de Salud. Este documento fue enviado para su





© Patricia Lagarde, de la serie *De la clasificación de los seres*.

validación y consenso a diversas instituciones del Sector Salud, comisiones de derechos humanos, universidades y organizaciones no gubernamentales. De la consulta de un total de 1,117 instituciones representantes de la salud y la sociedad mexicana resultó este decálogo definitivo:

1) RECIBIR ATENCIÓN MÉDICA ADECUADA. El paciente tiene derecho a que la atención médica se le otorgue por personal preparado de acuerdo a las necesidades de su estado de salud y a las circunstancias en que se brinda la atención; así como a ser informado cuando requiera referencia a otro médico.

2) RECIBIR TRATO DIGNO Y RESPETUOSO. El paciente tiene derecho a que el médico, la enfermera y el personal que le brinden atención médica, se identifiquen y le otorguen un trato digno, con respeto a sus convicciones personales y morales, principalmente las relacionadas con sus condiciones socioculturales, de género, de pudor y a su intimidad, cualquiera que sea el padecimiento que presente, y se haga extensivo a los familiares o acompañantes.

3) RECIBIR INFORMACIÓN SUFICIENTE, CLARA, OPORTUNA Y VERAZ. El paciente, o en su caso el responsable, tiene derecho a que el médico tratante les brinde información completa sobre el diagnóstico, pronóstico y tratamiento; se exprese siempre en forma clara y comprensible; se brinde con oportunidad con el fin de favorecer el conocimiento pleno del estado de salud del paciente y sea siempre veraz, ajustada a la realidad.

4) DECIDIR LIBREMENTE SOBRE SU ATENCIÓN. El paciente, o en su caso el responsable, tienen derecho a decidir con libertad, de manera personal y sin ninguna forma de presión, aceptar o rechazar cada procedimiento diagnóstico o terapéutico ofrecido, así como el uso de medidas extraordinarias de supervivencia en pacientes terminales.

5) OTORGAR O NO SU CONSENTIMIENTO VÁLIDAMENTE INFORMADO. El paciente, o en su caso el responsable, en los supuestos que así los señale la normativa, tiene derecho a expresar su consentimiento, siempre por escrito, cuando acepte sujetarse con fines de diagnóstico o terapéuticos, a procedimientos que impliquen un riesgo, para lo cual deberá ser informado en forma amplia y completa en qué consisten, de los beneficios que se esperan, así como de las complicacio-



© Patricia Lagarde, de la serie *De la clasificación de los seres*.

nes o eventos negativos que pudieran presentarse a consecuencia del acto médico. Lo anterior incluye las situaciones en las cuales el paciente decida participar en estudios de investigación o en el caso de donación de órganos.

6) SER TRATADO CON CONFIDENCIALIDAD. El paciente tiene derecho a que toda la información que exprese a su médico, se maneje con estricta confidencialidad y no se divulgue más que con la autorización expresa de su parte, incluso la que derive de un estudio de investigación al cual se haya sujetado de manera voluntaria; lo cual no limita la obligación del médico de informar a la autoridad en los casos previstos por la ley.

7) CONTAR CON FACILIDADES PARA OBTENER UNA SEGUNDA OPINIÓN. El paciente tiene derecho a recibir por escrito la información necesaria para obtener una segunda opinión sobre el diagnóstico, pronóstico o tratamiento relacionados con su estado de salud.

8) RECIBIR ATENCIÓN MEDICA EN CASO DE URGENCIA. Cuando está en peligro la vida, un órgano o una función, el paciente tiene derecho a recibir atención de urgencia por un médico, en cualquier establecimiento de salud, sea público o privado, con el propósito de estabilizar sus condiciones.

9) CONTAR CON UN EXPEDIENTE CLÍNICO. El paciente tiene derecho a que el conjunto de los datos relacionados con la atención médica que reciba sea asentado en forma veraz, clara,

precisa, legible y completa en un expediente que deberá cumplir con la normatividad aplicable y, cuando lo solicite, obtener por escrito un resumen clínico veraz de acuerdo al fin requerido.

10) SER ATENDIDO CUANDO SE INCONFORME POR LA ATENCIÓN MÉDICA RECIBIDA. El paciente tiene derecho a ser escuchado y recibir respuesta por la instancia correspondiente cuando se inconforme por la atención médica recibida de servidores públicos o privados. Asimismo tiene derecho a disponer de vías alternas a las judiciales para tratar de resolver un conflicto con el personal de salud.

En estas sencillas ideas se resumen los derechos que tienen todas las personas cuya salud ha sido quebrantada, por cualquier causa, imputable o no a su conducta, ideología o preferencias; los pacientes afectados por VIH/SIDA no deben recibir un trato diferente.

B I B L I O G R A F Í A

- Ponce de León Rosales, S., Rangel Frausto, S., eds., *SIDA. Aspectos Clínicos y Terapéuticos*, Mc Graw-Hill Interamericana, México, 2000.
 Drane, J. F., "Métodos de ética clínica", *Bol. Sanit. Panam.*, 108: 415-425, 1990.
 Levy, J. A., ed., *HIV and the pathogenesis of AIDS*, 2da. edición, ASM Press, Washington, 1998.



© Patricia Lagarde, de la serie *Herbolaria*.

La lepra en Europa medieval

El nacimiento de un mito

Enrique
Soto Pérez de Celis

Imaginen un camino que atraviesa un denso bosque de pinos. Cerca se ve el silencioso cauce de un riachuelo que baja de las montañas. No hay ningún sonido más que el de las pisadas sobre las hojas y las ramas que han caído de los árboles y que tapizan el camino. De pronto, no lejos de ustedes, el sonar de una campana y de unas castañuelas rompe la tranquilidad de la tarde. Sin pensarlo dos veces, corren a esconderse entre los pinos, mientras la persona de la capa gris pasa caminando con un andar cansado y dubitativo. No pueden ver su cara, pero saben que está desfigurada, espantosa y sucia, y que acercarse podría acarrearles el mismo castigo. Es un leproso.

Puede que la lepra sea una de las enfermedades más antiguas e interesantes de nuestro planeta. Su origen antecede el registro histórico escrito y los testimonios que sobre ella perduran hoy en día son vastísimos. Desde Galeno hasta Jack London,¹ pasando por la Biblia, ha sido inspiración para leyendas, cuentos, miedos y embustes. Sin embargo, es quizás en la Europa Medieval donde la lepra cobra su mayor importancia histórica y médica.

Al contrario de la creencia popular, la Edad Media no fue una época insalubre y plagada de enfermedades. De hecho, las enfermedades que habían causado grandes epidemias en el pasado, entre ellas la peste bubónica (la plaga de Justiniano) y el sarampión, habían desaparecido por completo luego de la caída del Imperio Romano, al desintegrarse los grandes núcleos urbanos y por lo tanto la posibilidad de contagios masivos.² El que la lepra, un padecimiento de larga evolución, haya sido la enfermedad más importante de la Edad Media, indica que las condiciones de salud en Europa habían mejorado.

Hoy sabemos que la lepra es una enfermedad crónica causada por el bacilo *Mycobacterium leprae*, descubierto por Gerhard Armauer Hansen a finales del siglo XIX.³ La lepra es una enfermedad poco contagiosa (el 95% de la población mundial es inmune a la infección) cuyos síntomas tardan muchos años en manifestarse.⁴ Cuando se presentan, sin embargo, son muy aparatosos y destructivos para los pacientes. Entre ellos se cuentan la formación de nódulos, la fascies leonina, la pérdida de sensibilidad de las extremidades, las deformidades articulares (mano del predicador) e incluso la ceguera y la parálisis facial.⁴ Su baja infectividad y la prolongada latencia de aparición de los síntomas, aunadas a las creencias religiosas y mágicas dominantes en la sociedad medieval, explican el que los leprosos fueran apartados de la colectividad y que su enfermedad haya sido considerada como algo sucio e impuro: un castigo de Dios.

LOS ORÍGENES DE LA LEPROSIA

No se conoce con exactitud el origen histórico de la lepra debido a la falta de conocimientos para diagnosticar y registrar las enfermedades en la antigüedad, y a los pocos datos

© Patricia Lagarde, de la serie *Herbolaria*.



que esta enfermedad deja en momias y esqueletos. Los casos comprobables más antiguos de lepra se encontraron en momias egipcias que datan del siglo II a.C., hace unos 2,200 años.² Esto, sin embargo, no tiene mucha utilidad debido a que hay numerosas descripciones previas de cuadros clínicos que podrían ser causados por la lepra.

Aun cuando los registros de casos parecidos a lepra más antiguos se encuentran en el papiro de Berlín,⁵ que data de tiempos de Ramsés II, algunos autores insisten en que la lepra se originó en la India y fue llevada a Egipto por Alejandro Magno en su ya legendario viaje de exploración y conquista. Esto tiene sentido si analizamos la ruta de Alejandro desde Macedonia hasta la India y luego de regreso pasando por Egipto y por el Oriente próximo.⁶ Sea como fuere, en el siglo XX antes de Cristo, o sea hace 4,000 años, los egipcios probablemente ya habían observado algún caso aislado de lo que hoy conocemos como lepra.

Egipto era en esos tiempos casa de un pueblo errante, los judíos. Hay algunos registros que documentan que hasta 80,000 judíos de Egipto estaban infectados con lepra. Los judíos no sólo fueron en parte responsables de que la enfermedad se extendiera al huir de Egipto, sino que además, junto con los griegos y los árabes, crearon una de las mayores confusiones de la historia de la medicina. Para entender los acontecimientos que ayudaron a forjar el mito de la lepra como una enfermedad temida desde el punto de vista religioso, debemos primero revisar las descripciones de la enfermedad que hicieron estas tres culturas. Asimismo es importante conocer el nombre que cada una de ellas asignó a lo que hoy conocemos como lepra para comprender cómo una desafortunada serie de errores de traducción, a través de cuatro idiomas diferentes, llevaron a crear semejante laberinto médico.

Los hebreos contaban con una palabra que englobaba una serie de afecciones cutáneas que, en el marco religioso, representaban enfermedades "impuras" cuyos portadores debían ser alejados de la sociedad. Esta palabra era *tzaraat*. Al mismo tiempo, los griegos utilizaban la palabra "lepra", para referirse también a una gran variedad de enfermedades cutáneas (probablemente la psoriasis, el vitiligo y algunos casos de acné). La enfermedad que hoy conocemos como lepra, en cambio, era llamada "elefantiasis" por los griegos. No muy lejos de allí, en el mundo árabe, los destacados médicos del Islam habían descrito una enfermedad que ellos



llamaron *juzam* y que era el equivalente de la “elefantiasis” de los griegos, o sea la lepra de hoy en día.⁷

En el Viejo Testamento, libro sagrado de los hebreos, hay repetidas menciones, sobre todo en el Levítico, de la impura enfermedad (o enfermedades) conocida como *tzaraat*. Cuando los eruditos de Alejandría tradujeron el Viejo Testamento al griego, *tzaraat* fue traducida como “lepra”. Sin embargo, la medicina griega llegó al Occidente por medio de manuscritos arábigos y, cuando se tradujeron estos manuscritos al latín, la palabra árabe que fue traducida como “lepra” no fue otra sino “juzam”, que era el término para definir la “elefantiasis” de los griegos. Esto propició que se estableciera una conexión que nunca debió haber existido entre la “lepra” de los latinos, el *juzam* de los árabes, la “lepra” de los griegos y el *tzaraat* de los hebreos. Aunque los médicos medievales conocían este error y se referían a la lepra como dos enfermedades distintas –la lepra de los árabes (o sea la lepra en sí) y la lepra de los griegos (o sea una serie de afecciones cutáneas diversas)–, esta diferencia poco importó debido al estigma religioso que se asoció con la enfermedad.⁷ Esta conexión errónea ayudó a que un padecimiento aparentemente poco importante como la lepra fuera relacionado con toda una serie de enfermedades que habían sido consideradas impuras por el libro sagrado de los hebreos (y de una gran mayoría de la población europea). En parte gracias a este error de traducción se inició la discriminación y el miedo hacia los enfermos de lepra que marcaría la historia de esta enfermedad.

LA LEPRO EN LA BIBLIA

La importancia de la Biblia en la sociedad medieval no puede relatarse con palabras ni medirse con números. Después de la desaparición del Imperio Romano, el cristianismo se apoderó de un mundo influenciado y débil que necesitaba desesperadamente algo en qué creer. Las ideas cristianas de salvación y perdón echaron raíces en este nuevo mundo, y llegaron a él en las hojas de la Biblia. Sobre por lo tanto decir que las ideas medievales sobre la lepra surgieron de los increíblemente erróneos preceptos bíblicos. La Biblia es, sin duda alguna, el libro en el que la lepra adquiere una mayor importancia histórica y social. Aunque, como ya se mencionó, es probable que la mayoría de los casos de lepra que se refieren en la Biblia no sean la lepra como la conocemos hoy, sino otras muchas

enfermedades dermatológicas, esto no afectó la repercusión de los escritos bíblicos en lo que a la lepra respecta.

Un ejemplo de esta equivocación diagnóstica la podemos encontrar en la historia de Naaman el leproso. En este pasaje bíblico se menciona que Naaman era “blanco como la nieve”.⁸ Esto hace muy poco probable que la enfermedad que lo afectaba fuera lepra, debido a que esta característica clínica no es propia de la enfermedad. Lo más factible es que la verdadera enfermedad de Naaman fuera vitiligo. Otros muchos errores pueden encontrarse, entre ellos la idea de que la lepra emblanquecía el cabello⁹ e incluso afectaba la ropa o las paredes¹⁰ (se ha pensado que esta “lepra de las paredes” es en realidad un hongo o quizás simple humedad).

En la Biblia la lepra no es considerada sólo como una enfermedad del cuerpo sino también como una enfermedad del alma. En este aspecto el término “leproso” no es dado sólo a aquellas personas cuya piel y cuyo cuerpo hubiesen sido destruidos, sino también a aquellas personas castigadas por Dios o apartadas y discriminadas por la sociedad.

El ejemplo bíblico más importante de la lepra como castigo es el del rey Ozías,¹¹ mientras que el de la lepra como discriminación lo encontramos en el libro del profeta Isaías.¹² En algunas traducciones de este libro se menciona que el enviado de Dios a la Tierra (o sea Jesucristo) sería considerado como un “leproso”, mientras que en otras sólo se habla de que sería humillado. Aunque Jesucristo no era clínicamente un leproso, sí causó tanto miedo y rechazo como si lo fuera en la sociedad a la que llegó. En este sentido, la lepra deja de ser una enfermedad para transformarse en un estigma social (aunque para algunas personas esta “lepra” de Jesucristo fue tomada como una señal de que los enfermos de lepra eran personas santas¹³). De hecho, según el Antiguo Testamento, los leprosos debían de ser excluidos de la sociedad y retirados de los asentamientos humanos para vivir aislados por el resto de su existencia.¹⁴

Aún más importante es el hecho de que los leprosos no pudieran ser curados. La palabra que se usa en los evangelios para referirse al acto en el que Jesús alivia a los leprosos de sus males no es curar, sino limpiar.¹⁵ Esto indica, sin lugar a dudas, que la lepra no era considerada como una enfermedad sino como un signo de impureza y de suciedad.

No es raro, por lo tanto, que la sociedad medieval odiara y temiera a los leprosos. Tampoco es raro que los leprosos fueran segregados y apartados de los asentamientos humanos y considerados muertos en vida. Con la Biblia y sus

enseñanzas como fondo histórico, se desarrollaron la vida y la muerte de los leprosos medievales.

DIAGNÓSTICO Y VIDA DEL LEPROSO

La vida de los leprosos en la Edad Media fue de sufrimiento y horror. Los preceptos religiosos concernientes a la enfermedad eran categóricos en cuanto al aislamiento y la segregación de los enfermos con lepra. Una prueba de ello es que a finales de esta era en Europa existían 18,000 leproserías en las distintas áreas endémicas.¹⁶

El procedimiento medieval en cuanto al diagnóstico e identificación de la lepra no distaba mucho de los conceptos levíticos. Cuando el paciente era diagnosticado como leproso ya fuera por el médico, por el sacerdote y, en algunos pueblos, incluso por el barbero, se emitía un decreto en el que se lo declaraba como leproso. Debido a las consecuencias sociales que esto podía ocasionar, el diagnóstico tenía que ser muy bien revisado y los síntomas correctamente descritos. El estándar de oro para el diagnóstico de la lepra era, según Gaddesden, la presencia de una destrucción masiva de la cara del paciente y sólo en la presencia de este signo se debía hacer la afirmación de que se trataba de un leproso.⁵ Sin embargo, y como lo prueban muchos registros, esto no se aplicó en la mayoría de los casos. De hecho, los diarios del Deán Muur, habitante de las Islas Aland entre Suecia y Finlandia y que son analizados y compilados por Richards en su libro *The Medieval Leper* indican que el mero rumor de que una persona tuviera lepra podía llevar a su reclusión en un hospital especial.

¿Por qué era tan importante el diagnóstico de lepra? La respuesta a esta pregunta se encuentra en las escrituras del Levítico. Y es que no sólo debía alejarse al leproso de la vida cotidiana y de la ciudad, sino que además perdía el derecho a compartir su cama con una mujer que no fuese su esposa o a vivir con individuos sanos. La lepra fue, además, desde el año 757 hasta finales del siglo XIV causa legal de divorcio y de pérdida de todos los bienes comunes.

Cuando la enfermedad era diagnosticada en un paciente, el sacerdote iba a su casa y lo llevaba a la iglesia entonando cánticos religiosos. Una vez en el templo, el sujeto se confesaba por última vez y se recostaba, como si estuviera muerto, sobre una sábana negra a escuchar misa. Terminada la homilía, se le llevaba a la puerta de la iglesia, donde el sacerdote hacía una pausa para señalar: "Ahora mueres para el mundo,



pero renaces para Dios". Luego se le recordaban las palabras del profeta Isaías, aquellas en que se establecía una relación entre Jesucristo y la lepra, para reconfortar al enfermo. Una vez dicho esto, se llevaba al doliente a los límites de la ciudad donde se le recitaban las prohibiciones: se le prohibía la entrada a iglesias, mercados, molinos o a cualquier reunión de personas; lavar sus manos o su ropa en cualquier arroyo; salir de su casa sin usar su traje de leproso; tocar con las manos las cosas que quisiera comprar; entrar en tabernas en busca de vino; tener relaciones sexuales excepto con su propia esposa; conversar con personas en los caminos a menos que se encontrara alejado de ellas; tocar las cuerdas y postes de los puentes a menos que se colocara unos guantes; acercarse a los niños y jóvenes; beber en cualquier compañía que no fuera aquella de los leprosos; caminar en la misma dirección que el viento por los caminos. Además, se le ordenaba que cuando muriese debía hacerse enterrar en su propia casa.

Una vez proferidas todas estas prohibiciones, se le daba al leproso su ajuar completo: una capucha de color café o gris, zapatos de piel, un par de castañuelas para avisar a la gente de su proximidad, una taza, un bastón, un par de sábanas, un cuchillo pequeño y un plato.¹⁷ El leproso, solo y desamparado, debía caminar hacia el campo abierto y asentarse en su morada alejado de todas aquellas personas que no habían sido castigadas con la lepra. Allí viviría y moriría, con suerte acompañado de su esposa (si es que ésta no pedía el divorcio), y nunca más podría presentarse en lugares públicos. En algunos lugares de Inglaterra incluso se creó el concepto de las "ventanas para leprosos". Estas ventanas, colocadas casi a ras del suelo en las paredes de las iglesias, permitían a los leprosos ver la misa desde afuera.

La creación de las leproserías promovió aún más la discriminación y el miedo hacia los leprosos. Aunque pueda parecer absurdo, el desarrollo de las leproserías tuvo un efecto negativo en los enfermos y en su evolución. Esto se debió, en gran parte, a que la sociedad de la época (y los mismos pacientes), llegaron a considerar a estos hospitales como cementerios para vivos. Puede imaginarse el efecto que tenía, sobre el paciente, el estar encerrado sabiendo que el único modo de salir era morir. Asimismo, el miedo que se tenía en la Edad Media a los leprosos y a la enfermedad (ser infectado significaba un encierro eterno) aumentó considerablemente. La construcción de leproserías tuvo un crecimiento exponen-

dont l'une put estre sance si cū la bla
 Cete q̄ doit estre curer: d'nez m̄ esp
 le epoiniez d'enz leqr del malade si
 garrī si elbe blanche en ist ne pot el
 che morphe fauef tel oingnetī p̄nez
 eozpientī sil builliez cristā uete si



Médico examinando a un leproso. Ilustración de un manuscrito medieval que pertenece a la Universidad Trinity, Cambridge.

cial en la Europa medieval. Muchos de estos hospitales para leprosos se encontraban adosados a hospitales "normales" que se encargaban de todas las otras enfermedades. A estos establecimientos se les conoció también como lazaretos en honor a San Lázaro, el santo patrón de los leprosos. El origen de este santo y su relación con la lepra está, como el resto de la historia de esta enfermedad, plagado de confusiones. Al contrario de lo que se cree, el Lázaro de los leprosos no es el Lázaro al que Jesucristo levantó de la muerte, sino el mendigo cubierto de llagas de la parábola del hombre rico. Sin embargo, la relación se generó, y por lo tanto una gran cantidad de leproserías llevaron el nombre del Lázaro equivocado e incluso el de sus hermanas, Marta y Margarita.¹⁸

Es posible que la relación entre la lepra y la resurrección de Lázaro no sea un hecho fortuito. Siendo el perdón y la salvación dos conceptos muy arraigados en la religión católica, no es ilógico pensar que, en un intento religioso de "curar" la lepra, se haya recurrido a la búsqueda del arrepentimiento de los enfermos para darle fin a la enfermedad por medio de la indulgencia de Dios.

La orden de los caballeros de San Lázaro, que se separó de los caballeros hospitalarios, es otro claro ejemplo del culto a Lázaro. Esta orden, formada por cruzados escindidos de la orden de los Hospitalarios, se encargó de cuidar a los enfermos de lepra y de supervisar las leproserías. De hecho, muchos de sus caballeros estaban afectados por la enfermedad.

El aislamiento de los leprosos convirtió en realidad la idea de que la lepra fuera como una muerte en vida. Es posible que la existencia del leproso medieval se haya visto más afectada por los problemas psicológicos y sociales que por los problemas físicos que acarrearba su padecimiento.

TRATAMIENTOS MEDIEVALES CONTRA LA LEPROA

Quizás no haya en el extenso campo de la patología, enfermedad que haya sido objeto de tan frecuentes experiencias terapéuticas como la lepra. La historia de su tratamiento se ha dividido en tres periodos: incurabilidad, monoterapia y politerapia.¹⁹ Los tratamientos medievales contra la lepra caen en el primer periodo, debido a la incapacidad de los médicos de la época para obtener la curación o incluso la mejoría de los enfermos.

Los textos medievales que hablan sobre el diagnóstico de la lepra han sido ampliamente estudiados por su gran valor clínico e histórico. Sin embargo, aquellos libros que versan sobre el tratamiento de la enfermedad han sido poco analizados y en general han ocupado un lugar poco importante en el estudio de la lepra. Esto se debe, en gran parte, a que el tratamiento medieval contra la lepra no producía resultados benéficos. Aun cuando esto es cierto (la lepra fue incurable hasta el siglo xx con la llegada de los antibióticos), es muy interesante analizar la perspectiva que se tenía sobre la terapéutica de tan temida enfermedad.

Uno de los autores medievales que más testimonios dejó sobre el tratamiento de la lepra es Jordanus de Turre. En su libro *Tratado de los signos y tratamiento de los leprosos* y en sus *Notas sobre lepra*, Turre clasificó y analizó los diferentes tipos de lepra y sus tratamientos.²⁰

Siguiendo las directrices de Avicena y de Galeno, los médicos medievales (entre ellos el famoso Guy de Chauliac y el mismo Turre) identificaron cuatro etapas de la lepra: inicio, incremento, estado y declive, que siempre terminaban con la muerte del paciente. Tomando como base esta historia natural de la enfermedad, Turre resumió en tres los objetivos que debía tener un médico al tratar a un enfermo de lepra:

En el tratamiento de la lepra, los médicos comúnmente tienen tres objetivos: el primero es preservar a las personas predispuestas antes de que la enfermedad llegue; el segundo es curar a aquellos que



© Patricia Lagarde, de la serie *De la clasificación de los seres*.

sufren cuando ésta ha entrado pero no está confirmada; el tercero es paliar los daños una vez que ésta ha sido confirmada.²⁰

Los tratamientos que se recomendaron en la práctica médica medieval pueden separarse en dos grandes categorías: los médicos y los quirúrgicos. Entre los tratamientos quirúrgicos más utilizados se encontraban la aplicación de sanguijuelas, la cauterización y la flebotomía.²⁰ De éstos, el más usado fue la flebotomía, que consistía en el corte de grandes venas para “limpiar el hígado y el bazo” de la sangre impura del leproso. En muchos textos se llega incluso a la recomendación de preparar ungüentos con la propia sangre del leproso para que fuesen aplicados en sus heridas. Otros autores argumentan que, al ser la sangre del leproso sangre sucia, estos linimentos deberían ser elaborados con la sangre de personas jóvenes y sanas.²⁰

Entre los tratamientos médicos más bizarros mencionados en las obras de Turre se encuentra la carne de serpiente. Esta idea de que las serpientes podían ser utilizadas para el tratamiento de la enfermedad surge de las enseñanzas de Avicena y es reforzada por Galeno. Aunque se ha pensado que el fondo teórico de la utilización de las serpientes como tratamiento es la idea de que “un veneno expulsa a otro veneno”, esto se desmiente debido a la afirmación de Galeno de que era necesario retirar la cola y la cabeza de la serpiente porque contenían la ponzoña. Es probable que esta terapéutica fuera algo más simbólico, relacionando el cambio de piel de la serpiente con el cambio de piel que necesitaban los pacientes afectados con lepra.²⁰



Sin embargo, el enfoque durante el medioevo dado al tratamiento de la lepra fue muy parecido al tratamiento indiscriminado que se da hoy en día a muchas infecciones bacterianas. En las farmacopeas de la época se pueden encontrar, además de la carne de serpiente, otros 250 remedios para la lepra. Desafortunadamente el conocimiento médico de la época no permitía entender qué era la lepra y mucho menos curarla. De hecho, faltaban alrededor de quinientos años para que por fin se revelara el misterio detrás de la enfermedad, y otros cincuenta más para que dejara de ser incurable.

EL DECLIVE DE LA LEPRO EN EUROPA

Alrededor del año 1400, la “epidemia” de lepra desapareció de la mayor parte del continente europeo, concentrándose sólo en Noruega. Mientras la lepra se esfumaba de la mente de los europeos, nuevas enfermedades llegarían para tomar su lugar. A principios del siglo xv, Europa había crecido desproporcionadamente otra vez: la Edad Media dio paso al Renacimiento y las aldeas se transformaron en grandes, insalubres y hacinadas ciudades. Esto favoreció nuevamente la llegada de enfermedades de masas, como la tuberculosis y, otra vez, la peste.

Pero, ¿qué sucedió con la lepra? Arno Karlen expone dos teorías sobre la disminución de la enfermedad medieval por excelencia. La primera sostiene que los leprosos europeos fueron arrasados al inicio de la gran epidemia de peste debido a su debilidad inmunológica. La segunda, más interesante, establece una relación inversamente proporcional entre la lepra y la tuberculosis. Al aumentar la densidad de población, el más virulento y contagioso bacilo tuberculoso comenzó a extenderse en las ciudades. Actualmente sabemos que en algunos casos la infección tuberculosa puede propiciar cierta inmunidad contra *Mycobacterium leprae* y por lo tanto es posible que la tuberculosis haya “vacunado” a los europeos contra la lepra. Éste constituye un ejemplo de la competencia biológica de dos especies por sobrevivir en un medio hostil.²

CONCLUSIONES

En el umbral del tercer milenio los médicos y la sociedad siguen discriminando a aquellas personas portadoras de enfermedades que no pueden comprender en su totalidad. Las creencias reli-



gias señalan y estigmatizan a individuos atacados por virus y bacterias que nada tienen que ver con el pecado. La actual epidemia de SIDA abunda en paralelismos con la lepra medieval: es incurable, causa temor y, sobre todo, genera discriminación. Está en manos de los médicos de hoy evitar que se generen situaciones que parezcan sacadas de historias de hace 500 años. Las enfermedades no son un castigo, no son una penitencia, ni son un producto del pecado. Debemos entender esto y hacer que los demás lo entiendan, y así nunca más tendremos que abandonar el camino para evitar a un enfermo.

N O T A S

¹ London, J., Koolau the Leper en *To Build a Fire and other stories*, Bantam Classic and Loveswept, pp. 283-298, 1990.

² Karlen, A., *Man and Microbes: Disease and Plague in History and Modern Times*, Touchstone, primera edición, 1995.

³ Venita J., The Legacy of Armauer Hansen, *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, vol. 124, pp. 496-497, 1999.

⁴ Saúl, A., *Lecciones de Dermatología*, Méndez editores, décimocuarta edición, 2001.

⁵ Steger, J. W. y Barrett, T. L., Leprosy, en *Textbook of Military Medicine: Military Dermatology*, Office of the Surgeon General, Department of the Army, 1994.

⁶ Mark, S., Alexander the Great, Seafaring, and the Spread of Leprosy, *Journal of the History of Medicine and Allied Sciences*, vol. 57, 3, pp. 285-311, 2002.

⁷ Richards, P., *The Medieval Leper and his northern heirs*, D. S. Brewer, 2000.

⁸ Libro Segundo de los Reyes 5:27, *Biblia de Jerusalén*, edición española, GRAFO, 1975.

⁹ Levítico 13:10, *Biblia de Jerusalén*, edición española, GRAFO, 1975.

¹⁰ Levítico 14:35-37, *Biblia de Jerusalén*, edición española, GRAFO, 1975.

¹¹ Libro Segundo de las Crónicas 27:21, *Biblia de Jerusalén*, edición española, GRAFO, 1975.

¹² Isaías 53:4, *Biblia de Jerusalén*, edición española, GRAFO, 1975.

¹³ Farrell, J., *Invisible Enemies, Stories of Infectious Disease*, Farrar Stratus Giroux, primera edición, 1998.

¹⁴ Números 5:2, *Biblia de Jerusalén*, edición española, GRAFO, 1975.

¹⁵ Evangelio según San Mateo 8:2, *Biblia de Jerusalén*, edición española, GRAFO, 1975.

¹⁶ Urbina Torrija, J. R., et. al., Epidemiología de la lepra a través de la frecuentación de el Hospital Especializado de Trillo durante el periodo 1943-1995, *Revista Española de Salud Pública*, 71 (5), 463-477, 1997.

¹⁷ La versión completa de esta misa y de los procedimientos para excluir a los leprosos de la sociedad medieval se puede encontrar en Richards, Peter, *The Medieval Leper and his Northern Heirs*, D. S. Brewer, 2000.

¹⁸ Neyra Ramírez, J., *Imágenes Históricas de la Medicina Peruana*, Fondo Editorial de la UNMSM, 1999.

¹⁹ De las Aguas, J. T., Historia de la Terapéutica de la Lepra, *Revista Internacional de Dermatología y Dermatocósmética*, pp. 117-124, marzo 2001.

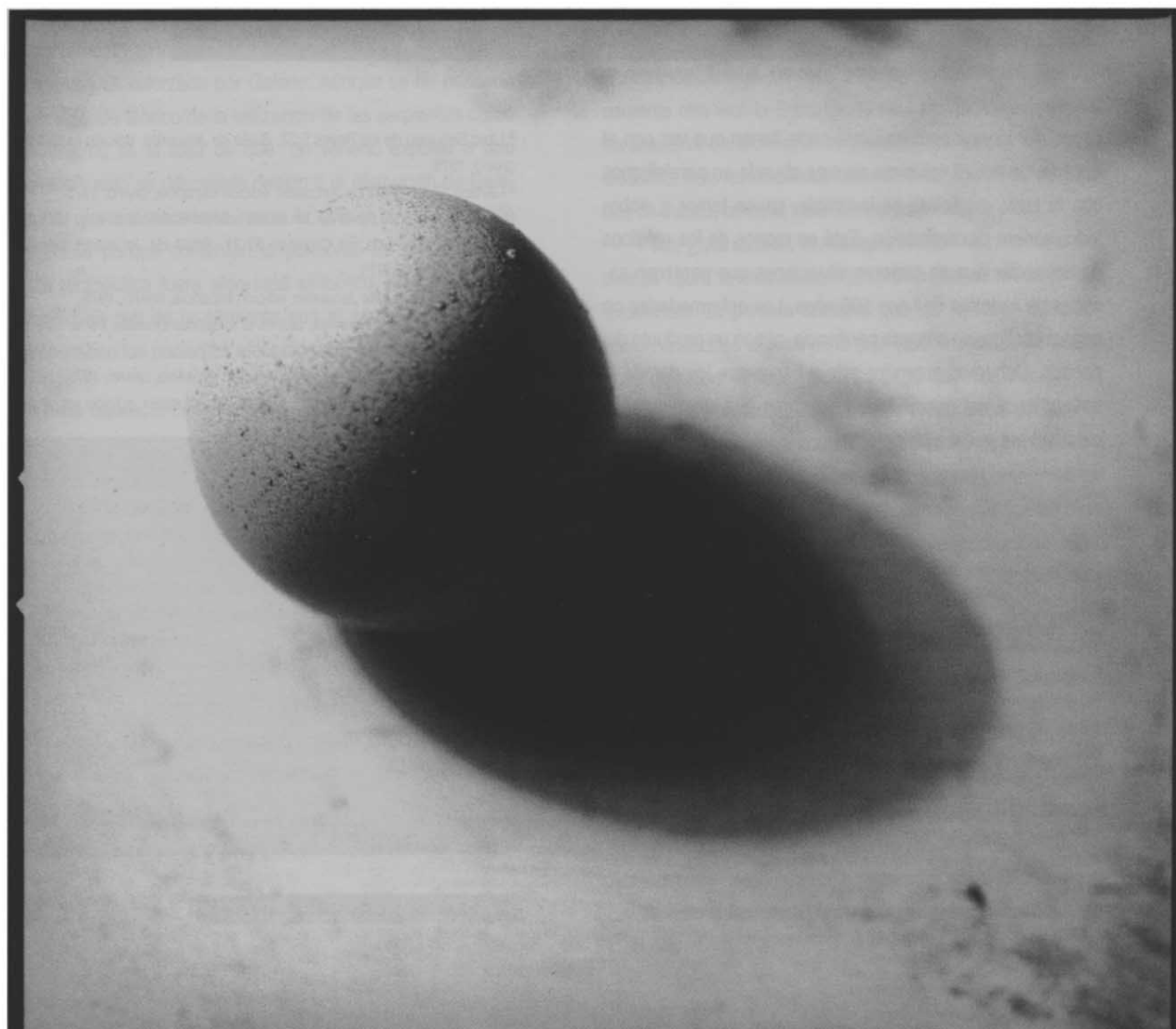
²⁰ Demaitre, L. E., The Relevance of Futility: Jordanus de Turre on the Treatment of Leprosy, *Bulletin of the History of Medicine*, vol. 70.1, pp 25-61, 1996.

Enrique Soto Pérez de Celis es estudiante de la Facultad de Medicina de la BUAP.

© Patricia Lagarde, de la serie *Herbolaria*.



© Patricia Lagarde, de la serie *De la clasificación de los seres*.



Bacterias acéticas:

diversidad e interacción con las plantas

Luis E. Fuentes R., Armando Tapia H., Teresita Jiménez S., Miguel Á. Mascarúa E., Yuriria Santoyo P., Luis R. Caso V., Hilario T. Romero H., María del Rayo Cajica E., Diana León B., Mónica Rosales P., Patricia Fügemann M. y María G. Castillo R.

GENERALIDADES

La actividad de las bacterias acéticas se conoce desde hace siglos por la producción de vinagre, la acetificación de bebidas alcohólicas y el deterioro de frutos. Estos organismos han sido de los primeras bacterias estudiadas que no son de importancia médica y a la fecha se conoce realmente poco de su ecología en el ambiente natural.

Las acetobacterias son un grupo de microorganismos gramnegativos que se desarrollan en distintas plantas.¹ La mayoría de los géneros de esta familia soportan altas concentraciones de sacarosa, así como de sus componentes, glucosa y fructosa. Además, muchas de ellas son capaces de crecer en presencia de ácido acético, produciendo acidificación cuando crecen en presencia de etanol. La relación fisiológica de las acetobacterias también está dada desde el punto de vista filogenético. La comparación de secuencia nucleotídica del gene ribosomal 16S con el de muchas otras bacterias, reúne a las acetobacterias en un grupo bien definido dentro de la subdivisión α de las proteobacterias² (figura 1).

Con la aplicación de técnicas moleculares, la familia *Acetobacteraceae* se ha sometido recientemente a revisiones taxonómicas. Actualmente esta familia está conformada por los géneros *Acetobacter*, *Acidomonas*, *Asaia*, *Gluconobacter*, *Gluconacetobacter* y *Kozakia* (Tabla I). Muy posiblemente las acetobacterias son de las bacterias más difundidas en ambientes relacionados con plantas, tan sólo del año 2000 a la fecha se han descrito 13 nuevas especies y dos nuevos géneros (Tabla I) procedentes de distintos ambientes.

TABLA 1
 ESPECIES REPORTADAS PERTENECIENTES A LA FAMILIA ACETOBACTERACEAE.

<i>Acetobacter pasteurianus</i>	<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> (FBN)
<i>A. aceti</i>	<i>G. johannae</i> * (FBN)
<i>A. pomorum</i>	<i>G. azotocaptans</i> * (FBN)
<i>A. estunensis</i> *	<i>G. sacchari</i>
<i>A. indonesiensis</i> *	<i>G. liquefaciens</i>
<i>A. tropicalis</i> *	<i>G. entani</i>
<i>A. peroxydans</i>	<i>G. europaeus</i>
<i>A. lovaniensis</i> *	<i>G. intermedius</i>
<i>A. orleanensis</i> *	<i>G. hansenii</i>
<i>A. seizygii</i> *	<i>G. xylinus</i>
<i>A. cibinogensis</i> *	<i>G. oboediens</i>
<i>A. orientalis</i> *	
<i>Gluconobacter asaii</i> *	<i>Asaia bogorensis</i> *
<i>G. cerinus</i>	<i>A. siamensis</i> *
<i>G. frateurii</i>	
<i>G. oxydans</i>	<i>Acidomonas methanolica</i>
<i>Kozakia baliensis</i>	
FBN indica las especies fijadoras de N ₂ . Con asteriscos se indican las especies descritas del año 2000 a la fecha.	

FIJACIÓN BIOLÓGICA DE NITRÓGENO

Como todo ser vivo, las plantas tienen entre sus componentes a las proteínas y ácidos nucleicos, estos compuestos a su vez contienen nitrógeno en grandes proporciones. Las únicas dos vías por las que los seres vivos pueden sintetizar estas biomoléculas son mediante la utilización de componentes nitrogenados tales como aminoácidos, bases púricas o pirimídicas e inclusive amonio o nitratos, o bien utilizando nitrógeno elemental (N₂), que es muy abundante en la atmósfera y el agua. Sin embargo, la capacidad de utilización del N₂ (fijación biológica de nitrógeno) es exclusiva de ciertas especies procarion-



tes. Así, la fijación biológica es la principal vía por la que el nitrógeno es transformado en formas utilizables para los organismos que son incapaces de incorporar directamente a este elemento en sus rutas metabólicas. Los microorganismos fijadores se ubican en distintos grupos taxonómicos de los dominios *Eubacteria* y *Archaea*, todos ellos procariontes.

En cuanto a las condiciones ecológicas en las que estos organismos llevan a cabo la fijación de nitrógeno, ciertas especies conocidas como "simbióticas" se caracterizan por fijar nitrógeno sólo cuando se encuentran en asociaciones mutualistas con plantas, posteriormente el nitrógeno fijado es transferido a la planta con la que se asocian. Esta relación es exitosa debido a que la planta proporciona compuestos que son utilizados como fuente de carbono y energía por la bacteria. Como ejemplos de tales asociaciones se encuentran *Rhizobiaceae*-leguminosas, *Bradyrhizobium*-leguminosas y *Frankia*-plantas diversas. Otro tipo de fijadoras lo constituyen las bacterias diazótrofes, las que no requieren de estar asociadas con algún organismo para fijar nitrógeno, por ejemplo especies de arqueobacterias, *Clostridium* spp. y *Paenibacillus* spp. De hecho, algunas de estas bacterias no se asocian a otros organismos, por lo que se conocen como fijadoras de vida libre. Otras diazótrofes se encuentran preferentemente formando asociaciones con plantas, si bien no requieren de la asociación para fijar nitrógeno, por ejemplo las especies del género *Azospirillum* y la acetobacteria *Gluconacetobacter diazotrophicus*. Con *Azospirillum* se tienen evidencias de que en asociación con plantas esta bacteria fija nitrógeno a una tasa indetectable o nula. Lo que es común para todas las bacterias





© Patricia Lagarde, de la serie *De la clasificación de los seres*.

diazótrofas es que utilizan el nitrógeno que ellas fijan para sus propias necesidades metabólicas.

La fijación biológica de nitrógeno es un proceso bioquímico con un alto costo energético para la célula que lo lleva a cabo, por lo que sólo se activan los mecanismos que conducen a ello si las bacterias fijadoras cuentan con las condiciones ambientales adecuadas y con un abasto suficiente de energía y, en el caso de los diazótrofos, si además se presentan carencias ambientales de compuestos nitrogenados biodisponibles. Por lo anterior, el control de la actividad fijadora se realiza a través de complejos mecanismos regulatorios, a nivel de la transcripción de los genes, de la traducción de los transcritos y de la modulación transitoria de las enzimas de la fijación.

PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO VEGETAL

El desarrollo y crecimiento de las plantas es dictado por una serie de compuestos que se conocen como fitohormonas. La producción de estas moléculas no es exclusiva de las plantas ya que diversas bacterias, especialmente las que se asocian a vegetales, son capaces de sintetizarlas. Algunos

de estos microorganismos producen enfermedades en las plantas y su producción de fitohormonas induce la aparición de algunos de los síntomas de tales enfermedades. Además de las bacterias fitopatógenas, otras bacterias inocuas, entre las que se encuentran algunas fijadoras de nitrógeno, pueden producir fitohormonas. Se tienen evidencias de que la capacidad de inducir el crecimiento de diversas plantas por algunas de estas bacterias está relacionada con la producción y liberación de fitohormonas tales como ácido indolacético, citocininas y giberelinas. Este tipo de asociaciones se ha explotado con fines agronómicos en distintos lugares, observándose que su efectividad es dependiente de los genotipos bacterianos y vegetales utilizados.

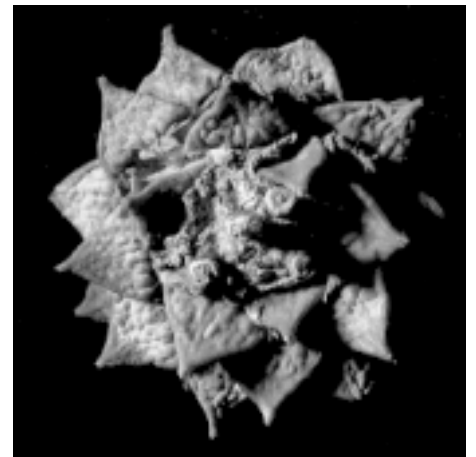
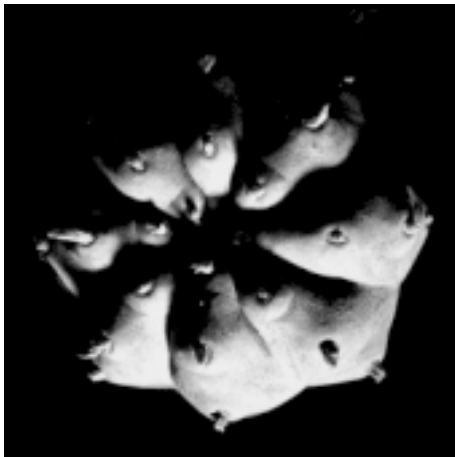
ACETOBACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO

Entre las acetobacterias existen especies fijadoras y no fijadoras, pero de todas ellas se tiene muy poco conocimiento de su ecología. Así, no se sabe qué papel desempeñan cuando se

desarrollan en las superficies de las plantas (epífitas) o en su interior (endófitas). De las bacterias que han sido más estudiadas desde este enfoque se tiene a la fijadora *Gluconacetobacter diazotrophicus*. Un indicio de su probable papel en la naturaleza lo han dado algunos experimentos de inoculación en caña de azúcar. En dichos experimentos se ha observado que las actividades de fijación de nitrógeno y de producción bacteriana de una fitohormona podrían tener un efecto de incremento de biomasa de la planta.³ En concordancia, se ha demostrado que al menos en ciertos cultivares de caña de azúcar la inoculación de ciertos genotipos de *G. diazotrophicus*, causa el aumento de biomasa de la planta (Tapia Hernández, sin publicar; figura 2). También en experimentos de inoculación de esta bacteria en caña de azúcar se ha observado que una vez en el interior de la planta, la bacteria coloniza conductos del xilema de tallo y hojas y probablemente floema del tallo.^{4,5} Aunque no se ha demostrado cómo *G. diazotrophicus* coloniza distintos tejidos de la planta, la colonización de xilema sugiere que el mismo pudiera constituir una vía de movilización de la bacteria. La colonización y el establecimiento de *G. diazotrophicus* en la caña de azúcar son influidos por la concentración de nitrógeno mineral biodisponible tanto en sustrato artificial⁹ como en suelo (Cajica Espinosa, sin publicar). La diversidad genética de las cepas de *G. diazotrophicus* asociadas a caña de azúcar es limitada si se compara con la de otros organismos.^{6,7,8} Caballero-Mellado y Martínez-Romero (1994) sugieren que esta baja diversidad se relaciona con el hecho de que *G. diazotrophicus* es una bacteria endófito. Este organismo mantiene una tasa baja de intercambio genético a nivel genómico global, sin embargo aún no se han realizado estudios para conocer cómo se comportan a este respecto regiones limitadas de su genoma.



En la familia de las acetobacterias hasta la fecha actual, sólo se han detectado fijadores de nitrógeno en un género. Estos fijadores son las especies *Gluconacetobacter diazotrophicus* (anteriormente *Acetobacter diazotrophicus*), *G. azotocaptans* y *G. johannae*.^{9,10} Estos organismos se encuentran en un grupo que está estrechamente relacionado (figura 1) y que incluye a las especies no fijadoras de nitrógeno *G. liquefaciens* y *G. sacchari*. *G. diazotrophicus* se ha encontrado asociado endofíticamente a plantas pertenecientes a distintas familias tales como *Poaceae*, *Rubiaceae*, *Bromeliaceae*^{11,12} y aparentemente en *Rosaceae* (León Burgoa, sin publicar) y una especie de la familia *Malpighiaceae* (Santoyo Páez, sin publicar). La distinción de las distintas acetobacterias del grupo cercano a *G. diazotrophicus* de manera clara y rápida se ha hecho posible utilizando técnicas que utilizan las variaciones en secuencia nucleotídica de genes ribosomales.^{10,11} Aparentemente, ciertas cepas de *G. diazotrophicus* forman asociaciones específicas con algunas especies vegetales (Fuentes Ramírez y col., sin publicar), aunque otras se encuentran en cualquiera de los hospederos estudiados. Actualmente estamos desarrollando estudios sobre la diversidad de las acetobacterias fijadoras de nitrógeno y su presencia en distintas plantas hospederas y en diversos ambientes. Asimismo, estamos tratando de determinar si en las acetobacterias diazótrofes se han presentado eventos de recombinación en regiones particulares, tales como las que codifican para las enzimas que llevan a cabo la fijación de nitrógeno.





NOTAS

- ¹ Swings, J. The genera *Acetobacter* and *Gluconobacter*, en *The prokaryotes*, A. Ballows, H. Trüper, M. Dworkin, W. Harder y K.-H. eds., Schleifer Springer Verlag, 2da. ed., cap. 3, vol. 3, Berlin, pp. 2268-2286, 1992.
- ² Sievers, M., Ludwig, W. y Teuber, M. Phylogenetic positioning of *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Rhodopila* and *Acidiphilium* species as a branch of acidophilic bacteria in the α -subclass of Proteobacteria based on 16S ribosomal DNA sequences, *Syst. Appl. Microbiol.*, vol. 17, pp. 189-196, 1994.
- ³ Sevilla, M., De Oliveira, A., Baldani, I. y Kennedy, C., Contributions of the bacterial endophyte *Acetobacter diazotrophicus* to sugarcane nutrition: a preliminary study, *Symbiosis*, vol. 25, pp. 181-196, 1998.
- ⁴ Fuentes-Ramírez, L. E., Caballero-Mellado, J., Sepúlveda, J., y Martínez-Romero, E. Colonization of sugarcane by *Acetobacter diazotrophicus* is inhibited by high N-fertilization, *FEMS Microbiol. Ecol.*, vol. 29, pp. 117-127, 1999.
- ⁵ James, E. K., Reis, V. M., Olivares, F. L., Baldani, J. I. y Döbereiner, J., Infection of the sugar cane by the nitrogen-fixing bacterium *Acetobacter diazotrophicus*, *J. Exp. Bot.*, vol. 45, pp. 757-766, 1994.
- ⁶ Caballero-Mellado, J. y Martínez-Romero, E., Limited genetic diversity in the endophytic sugarcane bacterium *Acetobacter diazotrophicus*, *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 60, pp. 1532-1537, 1994.
- ⁷ Caballero-Mellado, J., Fuentes-Ramírez, L. E., Reis, V. M. y Martínez-Romero, E., Genetic structure of *Acetobacter diazotrophicus* populations and identification of a new genetically distant group, *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 61, pp. 3008-3013, 1995.
- ⁸ Martínez-Romero, E. y Caballero-Mellado, J., *Rhizobium* phylogenies and bacterial genetic diversity, *Crit. Rev. Plant Science*, vol. 15, pp. 113-140, 1996.
- ⁹ Cavalcante, V. A. y Döbereiner, J. A., new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane, *Plant Soil*, vol. 108, pp. 23-31, 1988.
- ¹⁰ Fuentes-Ramírez, L. E., Bustillos-Cristales, R., Tapia-Hernández, A., Jiménez-Salgado, T., Wang, E. -T., Martínez-Romero, E. y Caballero-Mellado, J., Novel nitrogen-fixing acetic bacteria, *Gluconacetobacter johannae* sp. nov., and *Gluconacetobacter azotocaptans* sp. nov., associated with coffee plants, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, vol. 51, pp. 1305-1314, 2001.
- ¹¹ Jiménez-Salgado, T., Fuentes-Ramírez, L. E., Tapia-Hernández, A., Mascará-Esparza M. A., Martínez-Romero, E. y Caballero-Mellado, J., *Coffea arabica* L., new host plant for *Acetobacter diazotrophicus* and isolation of other nitrogen fixing acetobacteria, *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 63, pp. 3676-3683, 1997.
- ¹² Tapia-Hernández, A., Jiménez-Salgado, T., Bustillos-Cristales, R., Caballero-Mellado, J. y Fuentes-Ramírez, L. E., Natural endophytic occurrence of *Acetobacter diazotrophicus* in pineapple plants, *Microb. Ecol.*, vol. 39, pp. 49-55, 2000.

Los autores pertenecen al Laboratorio de Microbiología de Suelos, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, ICUAP. lefuente@siu.buap.mx

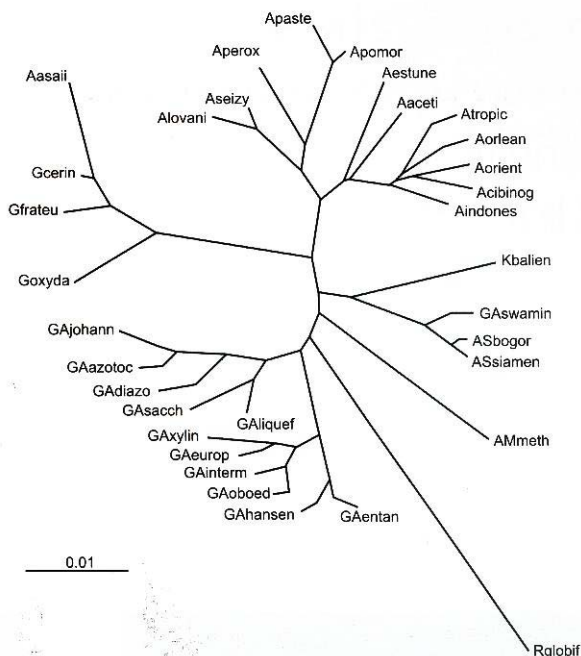


Figura 1. Relaciones filogenéticas de las especies de la familia Acetobacteraceae, con base en el gene ribosomal 16S. El grupo *Acetobacter* incluye *A. pasteurianus* Apaste; *A. aceti*, Aceti; *A. pomorum*, Apomor; *A. estunensis*, Aestune; *A. indonesiensis*, Aindones; *A. tropicalis*, Atropic; *A. peroxydans*, Aperox; *A. lovaniensis*, Aloban; *A. orleanensis*, Aorlean; *A. seizygii*, Aseizy; *A. cibinogensis*, Acibinog; y *A. orientalis*, Aorient. El grupo *Asaia* incluye *A. bogorensis*, ASbogor, *A. siamensis*, ASSiamen; "*Gluconacetobacter swaminathaniana*", GASwamin; y *Kozakia baliensis*, Kbalien. El grupo *Gluconacetobacter* incluye *G. sacchari*, GASacch; *G. johannae*, GAjohann; *G. azotocaptans*, GAzotoc; *G. entani*, GAentan; *G. europaeus*, GAeurop; *G. intermedius*, GAinterm; *G. hansenii*, GAhansen; *G. xylinus*, GAXylin; *G. liquefaciens*, GAlaquef; *G. diazotrophicus*, GAdiazo; y *G. oboediens*, GAoboed. El grupo *Gluconobacter* incluye *G. asaii*, Gasaii; *G. cerinus*, Goerin; *G. frateurii*, Gfrateu; y *G. oxydans*, Goxyda. La especie "*Gluconacetobacter swaminathaniana*" aún no se ha descrito y sólo se ha liberado su secuencia de 16S.

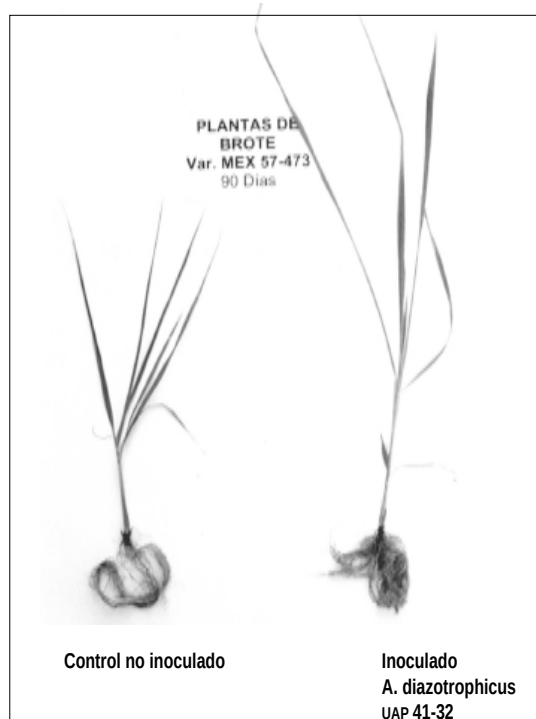
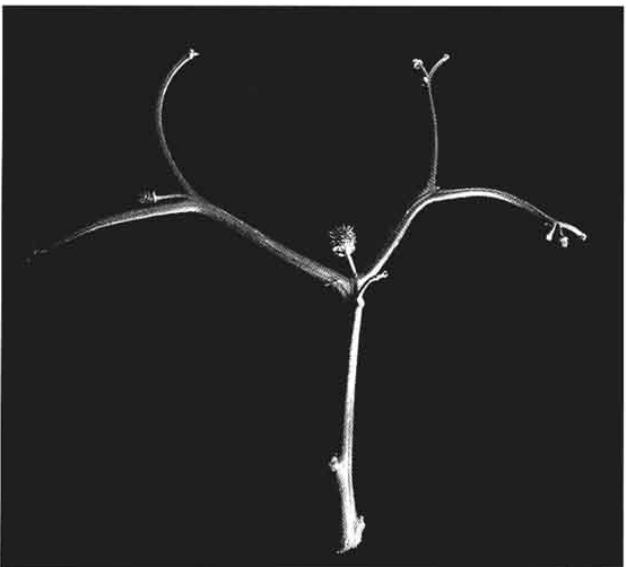
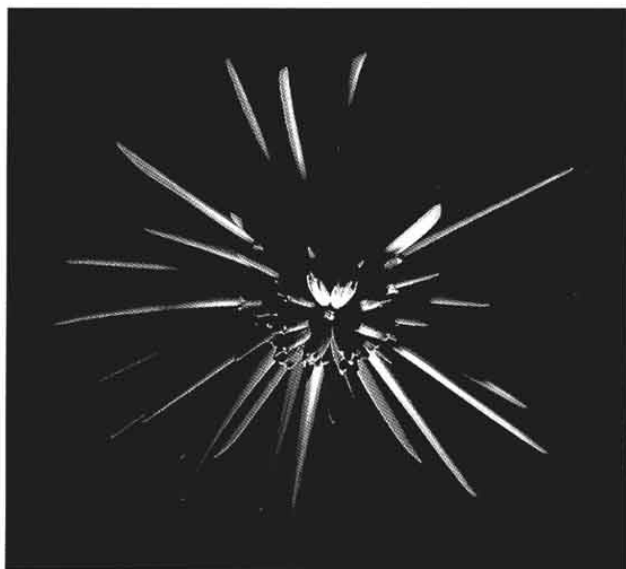


Figura 2. Efecto de la inoculación de *G. diazotrophicus*.



Caracterización molecular de aislados de *sclerotium cepivorum* mediante análisis del polimorfismo de los fragmentos amplificados al azar

Francisco
Luna Martínez,
Alberto
Flores Martínez
Patricia
Ponce Noyola

INTRODUCCIÓN

PUDRICIÓN BLANCA. Una de las enfermedades fúngicas más importantes, extendidas y destructivas de las especies del género *Allium* es la pudrición blanca. Ésta se propaga de manera rápida atacando plantas en cualquier suelo donde los cultivos estén en periodo de crecimiento y con igual magnitud en el desarrollo de la parte de la planta hospedera durante la temporada fría, la cual conduce al desarrollo y reproducción del patógeno *Sclerotium cepivorum*;^{2,3} bajo estas condiciones, esta enfermedad se vuelve la mayor limitante en la producción de los cultivos de *Allium*.⁴ A la fecha no se ha reportado la existencia de especies del género *Allium* resistentes a la infección por *S. cepivorum*.

Los síntomas iniciales que presenta la planta afectada por la pudrición blanca se caracterizan por una clorosis, seguida por el marchitamiento y caída de las hojas inferiores. Al arrancar una planta puede observarse que la base de las hojas, el bulbo y las raíces están necróticas y cubiertas por una pelusa blanca (micelio). También se pueden observar pequeñas manchas negras, debido a que el micelio tiende a formar esclerocios (formas de resistencia y de reproducción asexual del hongo), cuyos cuerpos son pequeños, esféricos y de color oscuro por la presencia de melanina.⁵

Los esclerocios de *S. cepivorum* pueden sobrevivir por más de 20 años en el suelo aun en la ausencia de la planta huésped y pueden diseminarse de un campo a otro por equipo contaminado o por el uso de semillas (dientes de ajo) contaminadas con el patógeno. Su germinación es estimulada a bajas temperaturas, tornándose óptima entre los 14-18°C y terminando abruptamente alrededor de los 24°C.⁶

S. cepivorum es un hongo fitopatógeno clasificado como un deuteromiceto ya que no se conoce su ciclo de vida sexual ni si produce esporas funcionales; se ha sugerido que es un ascomiceto ya que se ha reportado la formación de microconidias de 1.6 a 3.4 mm cuando se crece sobre agar agua.⁷

POLIMORFISMO DE LOS FRAGMENTOS AMPLIFICADOS AL AZAR (RAPD). El desarrollo de marcadores moleculares ha permiti-



© Patricia Lagarde, de la serie *Herbolaria*.

do una intensa investigación y la caracterización genética en hongos. La ventaja de los marcadores moleculares es que permiten utilizar información sobre eventos naturales y mutaciones fenotípicamente neutrales dentro de las poblaciones. La mayoría de las poblaciones tiene relativamente altas frecuencias de polimorfismos debidos a pequeños cambios en el DNA, gracias a mutaciones puntuales tales como sustitución de bases, inserciones, deleciones y translocaciones.⁸

TABLA 1. INICIADORES EMPLEADOS EN REACCIONES TIPO RAPD

INICIADOR	SECUENCIA (5' - 3')
OPA02	TGCCGAGCTG
OPA03	AGTCAGCCAC
OPA13	CAGCACCCAC
OPB10	CTGCTGGGAC
OPE14	TGCGGCTGAG
OPG02	GGCACTGAGG
OPG10	AGGGCCGTCT
OPH03	AGACGTCCAC
OPH18	GAATCGGCCA
OPH19	CTGACCAGCC
OPJ20	AAGCGGCCTC

ción de bases, inserciones, deleciones y translocaciones.⁸ La tecnología molecular ha permitido la detección de esos polimorfismos, con lo que se puede hacer una eficiente discriminación entre individuos.^{9,10,11} Muchos hongos filamentosos tienen pocos marcadores fenotípicos que pueden ser usados para diferenciar entre individuos en una población, esto limita el estudio sobre la biología de poblaciones en estos organismos. Los marcadores fenotípicos han sido útiles para diferenciar ciertos grupos entre algunas especies, pero no tienen suficiente resolución para distinguir entre individuos de una misma especie. La actual disposición de marcadores genéticos basados en diferencias en la secuencia de DNA ha hecho posible y práctico llevar a cabo estudios básicos de población y de biología evolutiva en hongos.⁸

Williams y cols.¹¹ escribieron un ensayo de polimorfismos de DNA de hongos en general, basado en la amplificación al azar de fragmentos de DNA con iniciadores de tamaño pequeño y de secuencia arbitraria. Dichos polimorfismos pueden ser usados para construir mapas genéticos de gran variedad de especies. Ellos sugieren que dichos polimorfismos sean llamados marcadores de Polimorfismo de Fragmentos Amplificados al Azar: RAPD (del inglés: *Random Amplified Polymorphic DNA*). La característica "al azar" de RAPD se refiere al iniciador cuya secuencia es arbitraria. En el RAPD, los iniciadores se alinean a su secuencia complementaria a lo largo de todo el genoma durante la reacción y por ello se requieren bajas temperaturas de alineación, generalmente de 30 a 37°C. Los RAPDs han sido empleados para diferenciar algunas cepas de la misma especie en plantas, bacterias, animales y hongos.¹¹

La variación en la efectividad de las prácticas de control de la pudrición blanca puede estar asociada con la variabilidad genética de *S. cepivorum*.⁸

Existen algunos antecedentes en torno a la variabilidad genética de *S. cepivorum* empleando la técnica de RAPD. Márquez-

TABLA 2. CLAVE, NOMBRE Y ORIGEN DE LOS AISLADOS Y CEPAS EMPLEADOS EN ESTE ESTUDIO.

1	FD1	GTO	20	FD27	GTO	39	AC1	AGS
2	FD2	GTO	21	FD28	GTO	40	AC2	AGS
3	FD4	GTO	22	FD31	GTO	41	AC6	AGS
4	FD5	GTO	23	FD32	GTO	42	AC8	AGS
5	FD6	GTO	24	FD34	GTO	43	FAZ1	ZAC
6	FD8	GTO	25	FD42	GTO	44	FAZ2	ZAC
7	FD11	GTO	26	M1A	GTO	45	FAZ3	ZAC
8	FD12	GTO	27	M2A	GTO	46	FAZ4	ZAC
9	FD14	GTO	28	C2	GTO	47	FAZ5	ZAC
10	FD15	GTO	29	SC	GTO	48	2FD30E	Inglaterra
11	FD16	GTO	30	INI1	AGS	49	MCG1	Canadá
12	FD17	GTO	31	INI2	AGS	50	MCG2	Canadá
13	FD18	GTO	32	INI4	AGS	51	MCG3	Canadá
14	FD19	GTO	33	INI5	AGS	52	MCG4	Canadá
15	FD20	GTO	34	INI6	AGS	53	MCG5	Canadá
16	FD21	GTO	35	INI7	AGS	54	MCG6	Canadá
17	FD22	GTO	36	INI8	AGS	55	<i>Sclerotium rolfsii</i>	CINVESTAV
18	FD23	GTO	37	INI9	AGS	56	<i>Rhizoctonia solani</i>	CINVESTAV
19	FD24	GTO	38	INI10	AGS	57	<i>Botrytis cinerea</i>	CINVESTAV
						58	<i>Macrophomina phaseolina</i>	CINVESTAV

Lona,¹² empleando 20 aislados de *S. cepivorum* provenientes de Celaya, Gto. probó 200 iniciadores (Operon Technologies, Inc) de los cuales propone 12 para realizar el análisis RAPD con este fitopatógeno (tabla1). Asimismo, Pérez-Moreno¹³ en un total de 31 aislados de *S. cepivorum*, probó 30 iniciadores (BioSynthesis, Inc.) y con cinco de ellos encontró amplificación al realizar RAPDS.

MATERIALES Y MÉTODOS

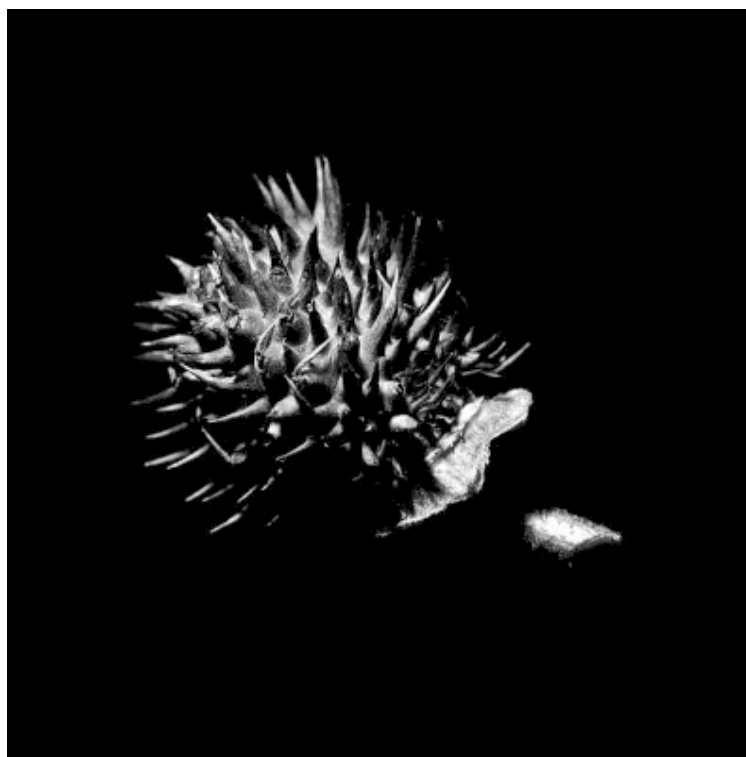
AISLADOS Y CEPAS EMPLEADOS. La lista de aislados y cepas que fueron empleados en este estudio (tabla 2) puede dividirse de la siguiente manera: 1) Cepas de referencia de *S. cepivorum*. Seis cepas, cada una representando un Grupo de Compatibilidad Micelial (MCG) diferente (proporcionadas por la Dra. Linda Kohn, de la Universidad de Toronto, Canadá). Una cepa proveniente de Inglaterra denominada 2FD30E (proporcionada por Felipe Delgadillo del INIFAP-Celaya). 2) Aislados de *S. cepivorum*. Se utilizaron 47 aislados mexicanos provenientes de tres estados productores de ajo: 29 de Guanajuato, 13 de Aguascalientes y 5 de Zacatecas. 3) Otros hongos. Se utilizaron 4 cepas de hongos fitopatógenos, los cuales son también formadores de esclerocios: *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea* y *Macrophomina phaseolina*.

CULTIVO DE AISLADOS Y CEPAS EMPLEADOS. Se utilizaron dos medios de cultivo: Agar Extracto de Malta (Bioxon) y Papa Dextrosa Agar (Bioxon). Todos los cultivos de *S. cepivorum* y de *B. cinerea* se incubaron a una temperatura entre

18 y 21 °C, mientras que cultivos de *S. rolfsii*, *R. solani* y *M. phaseolina* se incubaron a 28°C.

EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL DNA. Se siguió el procedimiento para extraer el DNA descrito por Flores-Martínez y col.¹⁴ La calidad del DNA se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%. Para la cuantificación se tomó una alícuota de la suspensión de DNA y se midió la densidad óptica a 280 y 260 nm en un espectrofotómetro Beckman DU-600. Con esta información, se ajustó la concentración a 100 ng/μL de DNA de cada muestra para su posterior utilización.

REACCIONES DE AMPLIFICACIÓN TIPO RAPD. Para las reacciones tipo RAPD se utilizaron los 12 iniciadores reportados por Márquez-Lona¹² y que se muestran en la tabla 1. Las condiciones de amplificación fueron: un ciclo (3 min/ 95°C),



© Patricia Lagarde, de la serie Herbolaria.

cuarenta ciclos (1 min/95°C, 40 s/30°C, 2 min/72°C), un ciclo (10 min/72°C), y un ciclo (10 min/ 6°C). Las reacciones se llevaron a cabo en el termociclador RoboCycler Gradient 40 de Stratagene. Estas condiciones siempre se mantuvieron constantes durante todas las amplificaciones.

ANÁLISIS DE LOS PRODUCTOS OBTENIDOS EN REACCIONES DE AMPLIFICACIÓN. Los productos de amplificación se separa-

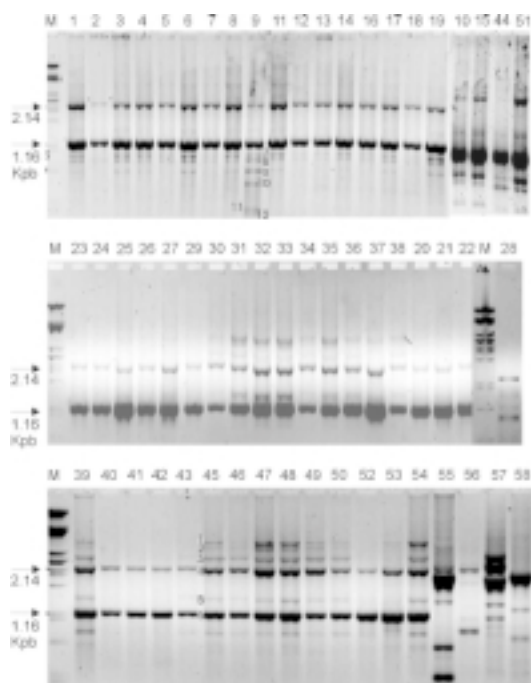


FIGURA 1. RAPD con el iniciador OPH19. Electroforesis en gel de agarosa 1.4% teñido con BrEt. M, marcador de tamaño molecular. Los números de los aislados se presentan en la Tabla 2. Los números dentro de cada gel indican las bandas analizadas.

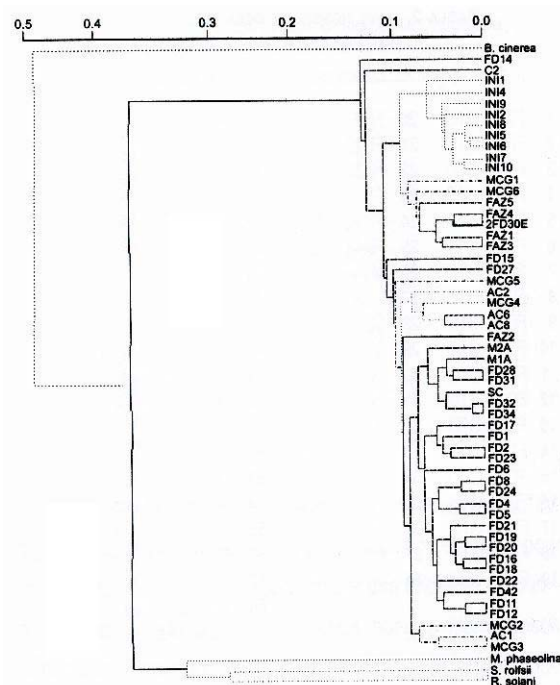


FIGURA 2. Distribución de los aislados en función de sus patrones genéticos. Dendrograma construido usando el método de los promedios no ponderados (UPGMA), empleando los coeficientes de apareamiento simple. La escala mide el coeficiente de disimilitud.

ron por electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1.4% que contenían Bromuro de Etidio, para posteriormente visualizar las bandas en un transiluminador de luz UV, la imagen se grabó en un registrador de información Eagle eye II de Stratagene.

MATRIZ DE DISIMILITUD GENÉTICA Y DENDOGRAMA. Para analizar matemáticamente los patrones de bandeo obtenidos con los 12 iniciadores-RAPD utilizados y determinar la distancia genética entre cada par de aislados de *S. cepivorum* se empleó el coeficiente de disimilitud de apareamiento simple utilizando la fórmula para calcular la proporción de bandas no compartidas (DAP) propuesta por Skroch y col.¹⁵

Con los coeficientes de disimilitud de apareamiento simple, se construyó una matriz de disimilitud genética. Además se construyó un dendrograma usando el método de los promedios no ponderados (UPGMA, del inglés: *Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Averages*).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ANÁLISIS CUALITATIVO DE LOS PATRONES DE BANDEO DE RAPDS. Se realizaron los ensayos tipo RAPD empleando los 12 inicia-

dores descritos por Márquez-Lona.¹² La figura 1 muestra el patrón de bandeo obtenido con el iniciador OPH19 para todos los aislados y cepas empleadas. Con todos los iniciadores se obtuvieron productos de amplificación. En general, no observamos muchas diferencias en el patrón de bandeo en los aislados y cepas de *S. cepivorum* con los iniciadores probados, pero sí fueron más notorias las diferencias con respecto al patrón de bandeo que presentaban los otros hongos fitopatógenos utilizados.

En el presente estudio, refiriéndonos a los patrones genéticos obtenidos con cada iniciador con los aislados y cepas de *S. cepivorum*, llamamos banda polimórfica a aquella banda que está presente en una frecuencia mayor al 1% y menor al 100%. Por lo tanto una banda que esté presente en todos los patrones genéticos tendrá una frecuencia del 100% y es llamada banda no polimórfica.

Para el análisis matemático realizado en el presente estudio, sólo se consideraron aquellas bandas que fueron capaces de ser distinguibles como presentes o ausentes dadas las condiciones propias de cada gel. Se tomaron como idénticas las bandas que tuvieron el mismo tamaño, la intensidad de las bandas no fue considerada un factor de polimorfismo. En la figura 1 se indica con un número las bandas seleccionadas. No sabemos aún a qué se debe este incre-

TABLA 3. BANDAS POLIMÓRFICAS OBTENIDAS CON CADA INICIADOR EN EL ANÁLISIS DE RAPDS.

INICIADOR	TOTAL DE BANDAS	BANDAS POLIMÓRFICAS	BANDAS NO POLIMÓRFICAS
OPA02	15	11	4
OPA03	14	11	3
OPA13	10	7	3
OPB10	14	13	1
OPE14	10	9	1
OPG02	13	13	0
OPG10	7	6	1
OPH03	11	8	3
OPH04	14	11	3
OPH18	15	13	2
OPH19	12	11	1
OPJ20	13	12	1
TOTAL	148(100%)	125 (84.5%)	23 (15.5%)

mento en la intensidad de las bandas, ni si tienen relación con alguna actividad fisiológica de los aislados, pero es posible que realizando estudios fisiológicos y bioquímicos se pueda correlacionar la ausencia o presencia de una banda o la mayor amplificación de ésta, con alguna característica fisiológica en estos aislados que lleve a obtener más información que permita controlar la pudrición blanca.

En la tabla 3 se anotó la cantidad de bandas analizadas en los patrones génicos obtenidos con cada iniciador, así como cuántas de ellas son bandas polimórficas y no polimórficas; la cantidad de bandas consideradas con cada iniciador-RAPD estuvo entre siete y quince. Aunque existe un alto porcentaje de bandas polimórficas (84.5%), los patrones génicos de *S. cepivorum* encontrados con cada iniciador son muy parecidos debido a que 66.7% de las bandas polimórficas tienen una frecuencia superior al 51.9% .

ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LOS PATRONES DE BANDEO. El análisis de los patrones de bandeo obtenidos con los 12 iniciadores empleados es representado por una matriz de disimilitud. Del análisis estadístico de todos los coeficientes de disimilitud de apareamiento simple de los aislados y cepas de *S. cepivorum* podemos concluir que la disimilitud genética promedio entre la población analizada de *S. cepivorum* es de 9.4%, lo cual indica que el grado de variabilidad genética en ella es poca y que este hongo fitopatógeno ha llevado a un grado mínimo su recombinación genética. Existen estudios realizados en otros hongos que sirven como referencia para comparar el grado de variabilidad genética encontrada en este trabajo; en ellos, también se ha trabajado con una población de aislados de la misma especie y realizado su análisis empleando la técnica de RAPD. En *Sclerotinia homeocarpa* se encontró baja disimilitud genética

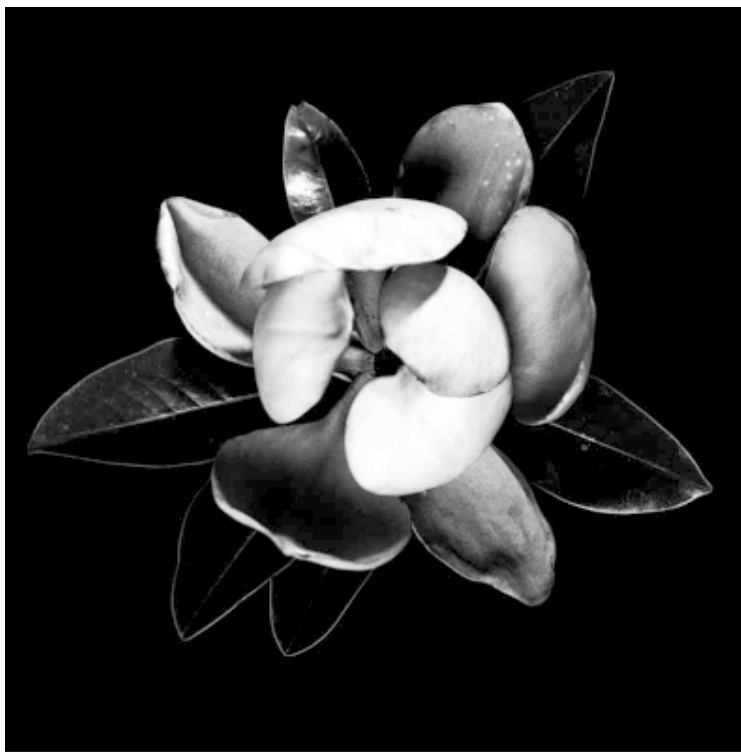
TABLA 4. BANDAS PROPUESTAS COMO MARCADORES MOLECULARES PARA IDENTIFICACIÓN DE *S. CEPIVORUM*.

INICIADOR	BANDAS	TAMAÑO MOLECULAR (kpb)
OPA02	5, 6, 7, 10	1.38, 1.28, 1.19, 0.89
OPA03	2, 4, 6, 7	2.79, 2.04, 1.47, 1.25
OPA13	4, 9	1.88, 1.20
OPB10	3, 4, 5	2.11, 1.90, 1.82
OPE14	1, 2	1.30, 1.13
OPG10	1	4.7
OPH03	3, 4, 6, 7, 8, 9	2.1, 1.82, 1.19, 1.0, 0.88, 0.7
OPH04	2, 3, 7, 11, 12	2.27, 1.89, 0.95, 0.66, 0.55
OPH18	3, 7, 9	2.73, 1.32, 0.81
OPH19	4	2.14
OPJ20	6, 12	1.12, 0.35

(< 20%).¹⁶ En *Beauveria brongniartii* la disimilitud genética encontrada fue menor del 12%.¹⁷

Para visualizar mejor la relación que existe entre los coeficientes de disimilitud genética contenidos en la matriz, se construyó un dendograma empleando el método UPGMA (método de los promedios no ponderados). En el dendograma se puede ver que la variabilidad existente entre la mayoría de los aislados es baja (figura 2). Además puede observarse cómo los otros hongos fitopatógenos analizados tienen un grado mucho mayor de disimilitud respecto a la población de aislados de *S. cepivorum*, es decir, el análisis tipo RAPD logra diferenciar a aislados de *S. cepivorum* de los que no lo son. Un análisis más fino del dendograma de la figura 2 permite descubrir que los aislados de *S. cepivorum* se agrupan en su mayoría de acuerdo al estado de donde provienen. La mayoría de los aislados y cepas se distribuyen en dos grandes ramas. Básicamente, en una rama se agrupan los aislados "INI" (de Aguascalientes) y "FAZ" (de Zacatecas) y en la otra rama, los aislados de Guanajuato y los "AC" (de Aguascalientes).

Dada la poca variabilidad genética que tiene la población de *S. cepivorum* analizada en este trabajo, puede suponerse que un mismo método de control debe tener similar efectividad en suelos de cultivo de distintas zonas agrícolas con similar densidad de esclerocios viables. Quizá las variaciones en la efectividad de las prácticas de control de la pudrición blanca son debidas a otros factores tales como las condiciones climáticas propias de cada región, diferentes tipos de suelo según su composición química y/o microbiológica, diferencias en la implementación del método de control, etcétera.



© Patricia Lagarde, de la serie *Herbolaria*.



Se analizó si en los aislados de Guanajuato había alguna correlación entre su agrupamiento y el municipio de procedencia, observándose que no hay ninguna correlación al respecto. Es probable que el intercambio anual de ajo que realizan los campesinos guanajuatenses provoquen un intercambio intenso de aislados de *S. cepivorum*.

Así pues, aquí se reporta que los aislados mexicanos de *S. cepivorum* logran discernirse mediante análisis RAPD según la entidad federativa de donde provienen. Aunque a la fecha desconocemos cuál es la presión selectiva que provoca dicha separación.

BANDAS PROPUESTAS COMO MARCADORES MOLECULARES PARA LA IDENTIFICACIÓN DE *S. CEPIVORUM*. Como se mencionó anteriormente, los patrones génicos obtenidos entre *S. cepivorum* y las cepas control (*S. rolfii*, *R. solani*, *B. cinerea* y *M. phaseolina*) son distintos entre sí, lo cual hace factible identificar bandas que se amplifican selectivamente en aislados de *S. cepivorum* y emplearlas para identificar muestras que presumiblemente sean de este hongo. Se seleccionaron aquellas bandas que tuvieran una frecuencia superior al 90%, que fueran nítidas dentro del patrón génico y que se les pudiera determinar su tamaño molecular. De las bandas exclusivas de *S. cepivorum* se proponen

33 bandas que cumplen los criterios antes mencionados y que podrían ser empleadas como marcadores moleculares para identificar a este organismo (tabla 4).

CONCLUSIONES

Tanto los aislados como las cepas de referencia de *S. cepivorum* mostraron patrones similares de morfología colonial y morfología de los esclerocios.

Todos los iniciadores probados dan bandas de amplificación. Se lograron condiciones de reproducibilidad en los RAPDs realizados. El 84.5% de las bandas analizadas son polimórficas. El análisis RAPD logra discernir claramente a los aislados de *S. cepivorum* de los otros hongos fitopatógenos empleados. Esto apoya la conclusión de que todos los aislados son *S. cepivorum*. Con los iniciadores empleados, los aislados y cepas de *S. cepivorum* dan un patrón similar entre sí, pero muy diferente al que mostraron los otros hongos fitopatógenos utilizados. La disimilitud genética promedio entre los aislados de *S. cepivorum* es de 9.4%. Ello implica que la recombinación genética en los aislados de este fitopatógeno es poca. El dendrograma, de manera general, agrupa a los aislados según la entidad federativa de donde provienen, pero no se logra agrupar a los aislados guanajuatenses según el municipio de origen.



© Patricia Lagarde, de la serie *Herbolaria*.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al doctor Octavio Martínez de la Vega del CINVESTAV-Irapuato, por su ayuda en el análisis matemático de los datos, a los doctores Felipe Delgadillo (INIFAP-Celaya) y Alfredo Herrera-Estrella (CINVESTAV-Irapuato) por proporcionarnos las cepas analizadas. FLM fue becario de CONACYT. Este proyecto fue apoyado por SIHGO proyectos: ALIM 16/96 y 19990201016.

NOTAS

¹ Laborde, J. A., *Coexistence of garlic white rot with commercial production in Central Mexico. Proceedings of the third International workshop on Allium white rot*, Sección 1, Entwistle, A. R. ed., Wellesbourne, UK TW Printing Associates Ltd Leamington Spa, UK, p. 24, 1987.

² Coley-Smith, J. R. and Entwistle, A. R., Susceptibility of cultivars of garlic to *Sclerotium cepivorum*, *Plant Pathol.*, 37:261-26, 1988.

³ Pinto, C. M., Maffia, L. A., Berguer, R. D., Mizobuti, E. S. and Casali, V. W., Progress of White Rot in garlic cultivars planted at Different times, *Plant Dis.*, 82:1142-1146, 1998.

⁴ Crowe, F. J. and Hall, D. H., Soil Temperature and Moisture Effects on *Sclerotium* Germination and Infection of Onion Seedlings by *Sclerotium cepivorum*, *Phytopathology*, 70: 74-78, 1980.

⁵ Kohn, L. M. and Grenville, D. J., Anatomy and Histochemistry of stromatal anamorphs in the *Sclerotiniaceae*, *Can. J. Bot.*, 67: 371-393, 1989.

⁶ Coley-Smith, J. R., Studies of the biology of *S. cepivorum* Berk. IV. Germination of sclerotia, *Ann. Appl. Biol.*, 48:8-18, 1960.

⁷ Little, E. R. and Rahe, J. E., Sclerotial morphogenesis in *Sclerotium cepivorum* in vitro, *Can. J. Bot.*, 70:772-778, 1992.

⁸ Rosewich, U. and McDonald, B. A., DNA Fingerprinting in Fungi, *Meth. Mol. Cell. Biol.*, 5:41-48, 1994.

⁹ Earnshaw, D. and Boland, G. J., Mycelial compatibility groups in *Sclerotium cepivorum*, *Plant Pathol.*, 46:229-238, 1997.

¹⁰ Martínez, O. and Simpson, J., *Analysis of AFLP data to construct dendrograms, International Training Course on Analysis and Manipulation of the Fungal Genome*, CINVESTAV, Irapuato, Gto., México, pp. 94-99, 1998.

¹¹ Williams, G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A. and Tingey, S. V., DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, *Nucl. Acids. Res.*, 18:6531-6535, 1990.

¹² Márquez-Lona, E. M., Caracterización molecular de aislados de *Sclerotium cepivorum* a partir de suelos infectados de la región de Celaya. Tesis para obtener el título de QFB, Facultad de Química, Universidad de Guanajuato, México, 1998.

¹³ Pérez-Moreno, L., Estructura poblacional de *Sclerotium cepivorum* Berk en México. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias, CINVESTAV, Irapuato, Gto., México, 1999.

¹⁴ Flores-Martínez A., Chet, I. y Herrera-Estrella, A., Improved biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* by over expression of the proteinase encoding gene *prb1*, *Curr. Gen.*, 31: 30-37, 1997.

¹⁵ Skroch, P., Tivang, J. and Nienhuis, J., Analysis of genetic relationships using RAPD marker data, en *Joint Plant Breeding Symposia*, Crop Science Society of America - American Society for Horticultural Science - American Genetic Association, Minneapolis, Mn., pp. 26-30, 1992.

¹⁶ Raina, K., Jackson, N., and Chandlee, J. M., Detection of genetic variation in *Sclerotinia homeocarpa* isolates using RAPD analysis, *Mycol. Res.*, 101:585-590, 1997.

¹⁷ Piatti, P., Cravanzola, F., Bridge, P. D. and Ozino, O. I., Molecular characterization of *Beuveria brongniartii* isolates obtained from *Melolontha melolontha* in Valle d'Aosta (Italy) by RAPD-PCR, *Lett. in Appl. Microbiology*, 26:317-324, 1998.

F. Luna Martínez, A. Flores Martínez y P. Ponce Noyola, pertenecen al Instituto de Investigación en Biología Experimental, Facultad de Química, Universidad de Guanajuato. poncep@quijote.ugto.mx



MANEJO COMUNITARIO DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA EN MESOAMÉRICA
FRANCISCO CHAPELA (COORDINADOR)
UNIVERSIDAD IBEROAMERICANA,
PUEBLA, 2002

Los efectos ambientales que provocan las actividades comerciales y productivas, aunados a los desastres ocasionados por los fenómenos naturales en países centroamericanos han creado la necesidad de desarrollar una gestión ambiental más sensata, una administración inteligente de nuestro patrimonio de diversidad biológica, con plena participación de los pueblos indígenas y campesinos, respetando sus derechos a la autogestión y al manejo de sus territorios.

El presente libro aporta algunas líneas que pueden ayudar a construir la autogestión ambiental mesoamericana, al proporcionar algunas reflexiones conceptuales, ejemplos de sistemas de manejo comunitario que han funcionado en la región, pero sobre todo, presenta una propuesta de concertación elaborada por un grupo de promotores de base de todos los países mesoamericanos, que podría servir para desarrollar un sistema mesoamericano de cooperación ambiental, en el que podrían florecer los mercados de servicios ambientales, como mecanismo para transferir recursos de las áreas de desarrollo urbano-industrial hacia las zonas rurales, contribuyendo a hacer de Mesoamérica una región más justa y menos expuesta a los desastres (Xiomara Gómez Robledo).



LA MODERNIZACIÓN DE LA CIENCIA EN MÉXICO. EL CASO DE LOS ASTRÓNOMOS
JORGE BARTOLUCCI
UNAM-PLAZA Y VALDÉS, MÉXICO, 2000

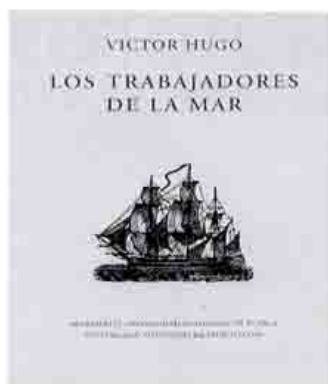
¿Cómo fue posible que un país subdesarrollado haya fomentado un exitoso programa de investigación en un campo científico de vanguardia? Esta pregunta es respondida en este libro que presenta una cautivante y rigurosa pesquisa sobre un tema casi inexplorado: la historia de la astronomía mexicana. Esta obra rebasa los límites de un mero recuento histórico o de un simple estudio sociológico, puesto que su autor, renunciando a los calificativos fáciles y a cualquier lugar común, desmenuza los complicados mecanismos que mueven el desarrollo de la ciencia y, al mismo tiempo, descubre los hilos que la entretejen con el poder político. Todo para llegar a conclusiones esclarecedoras —entre ellas, que el impulso a la ciencia en un país como el nuestro ha sido, desde sus mismos orígenes, más cuestión de prestigio, nacionalismo e incluso carisma o influencia de algún personaje, que producto del genuino interés por el conocimiento o el avance tecnológico.

Valiéndose de una bibliografía bien fundamentada y mediante abundantes citas, las más de ellas provenientes de fuentes inéditas o de los propios protagonistas de la historia, Jorge Bartolucci acomete un trabajo intelectual exacto y serio.



VIVIR UN ESPACIO. MOVILIDAD GEOGRÁFICA DE LA POBLACIÓN (HUEJOTZINGO, PUE., 1970-1999)
LUDMILA BORISOVNA BIRIUKOVA
INSTITUTO DE CIENCIAS SOCIALES Y HUMANIDADES-BUAP, 2002

Esta investigación refleja un trabajo de campo muy cuidadoso en Huejotzingo, en Santa María Atexcac, Santa Ana Xalmilulco, San Miguel Tianguizolco y Santa María Tianguistenco, en donde se obtuvo información que permite conocer no sólo el proceso geográfico, sino también el histórico. Aunque esta obra es eminentemente geográfica, refleja un contacto con otras disciplinas, vínculo necesario en cualquier estudio cultural. A lo largo de la obra se contestan cuestionamientos tales como: ¿qué consideraciones hace el individuo al actuar dentro del espacio? Implícitas en esta pregunta hay preocupaciones analíticas: ¿cómo perciben los individuos su medio ambiente?, ¿qué información adquieren y cómo se transmite ésta a través del espacio?, ¿cuál es la reacción de la población a la misma? y, finalmente, ¿cómo pueden resumirse un conjunto de acciones para encontrar patrones de decisiones tomadas en forma individual y aparentemente al azar? La investigación se basó en un campo de trabajo muy detallado que no sólo utilizó encuestas profundas, sino entrevistas y, en algunos casos relevantes, las historias de vida. Esto permitió conocer la experiencia de los individuos en los procesos de migración en diferentes periodos de tiempo.



LOS TRABAJADORES DE LA MAR
VICTOR HUGO
 BUAP-UAM, MÉXICO, 2002

En alguna ocasión Victor Hugo se preguntó si era el microscopio o el telescopio lo que nos permitía ver mejor. Él usó ambos instrumentos. Por eso se convirtió en maestro de muchas cosas. De ahí la necesidad de recurrir a los adjetivos. Philippe Sollers hizo un resumen de la enciclopedia imaginaria de adjetivos: "Victor Hugo es todos estos estados: contradictorio, voluntarista, inspirado, ambicioso, enamorado, intrigante, misterioso, soñador, entusiasta, deprimido, viajero, trabajador. Victor Hugo, sobre todo, como una prodigiosa máquina de lenguaje, poesía, drama, novela, anotaciones, visiones".

Es fastidioso tratar de hablar con los monumentos. Tal vez sea esto lo que nos advierten los críticos franceses que han dicho que para abordar a Victor Hugo es necesario apartarse de él. O mejor dicho, alejarse de los lugares comunes, de las imágenes oficiales, de los discursos reiterativos y de las conmemoraciones.

Para estar lejos del monumento hay que estar cerca del libro. La mejor manera de celebrar a Victor Hugo es leyéndolo.

Victor Hugo publicó la novela *Los trabajadores de la mar* en 1866 y fue traducida y editada en México ese mismo año por Villegas y Elizaga editores. No sabemos quién fue el traductor, pues debajo del título sólo se puede leer "traducción mexicana". Para la presente edición se ha modernizado la ortografía y corregido algunos nombres propios.



ENVOLTURAS
 ARQUITECTURA Y VESTIDO
MARCELO GAUCHAT,
ALEJANDRO HERNÁNDEZ G.,
IVÁN INZÚA (Eds.)
 INSTITUTO DE CIENCIAS SOCIALES Y
 HUMANIDADES-BUAP, 2003

Desde el más antiguo tratado de arquitectura conservado hasta algunas reflexiones contemporáneas, la relación entre el tejido y la arquitectura no ha pasado inadvertida. No podía ser de otro modo. Nada más arquitectónico que la manera como un hilo, simple línea o vector, se enreda sobre sí mismo o se entrelaza con otros para conformar un plano y luego, plegadas esas superficies, constituye el espacio habitable de nuestras ropas o las telas o tapices con las que revestimos nuestras casas.

Para tener sentido y poder remitirse al habitar, la arquitectura debe comprometerse con la estratificación multivalente del lenguaje (su materialidad, su textura y profundidad narrativa). La arquitectura da lugar a la polisemia, donde lo múltiple puede ser contenido, reunido, tejido en lo uno, sin ser reductiva, haciendo así que el sentido surja en toda su amplitud. El vocabulario de la arquitectura es creado por los materiales que necesitan ser tratados, vestidos, contruidos de acuerdo a su propia sintaxis, para que puedan ser articulados y evocar; para que la arquitectura pueda hablar.

las formas del siglo xx



LAS FORMAS DEL SIGLO XX
JOSEP MARIA MONTANER
 GUSTAVO GILI, BARCELONA, 2002

El libro parte de una premisa polémica: la forma es considerada el motivo central, el concepto clave del arte y la arquitectura. Las formas siempre transmiten valores éticos, siempre remiten a los marcos culturales, siempre comparten criterios sociales y siempre se refieren a significados. Precisamente este libro quiere demostrar que detrás de cada uno de los conceptos formales clásicos existe una visión del mundo, una concepción del tiempo y una idea definida de sujeto. Por esta razón, no sólo remite a las obras sino también a las teorías filosóficas y científicas del siglo xx.

Toda la complejidad de la arquitectura y del arte del siglo xx se ha aglutinado en torno a doce conceptos esenciales que permiten relacionar entre sí las obras de arquitectura, artes plásticas, literatura, cine, fotografía y moda. Estos conceptos que se desarrollan, interpretados como mecanismos creativos y mundos formales, son: organismos, incluyendo el organicismo y el surrealismo; máquinas, con la abstracción y el racionalismo; realismo, subdividido en realismo humanista y en cultura *pop*; estructuras, distinguiendo la crítica radical, la crítica tipológica y el minimalismo; y dispersiones, con fragmentos, caos y energías.