

***Klebsiella*, una bacteria que aprovecha las uniones celulares para introducirse en la corriente sanguínea**

PARAULES CLAVE:
infecciones respiratorias, expresión de factores de virulencia bacterianos, respuesta inmunológica

Investigadores de la UIB y del Hospital Son Dureta trabajan juntos en el Instituto de Investigación en Ciencias de la Salud (IUNICS) siguiendo los pasos de este microorganismo que provoca graves neumonías intrahospitalarias

KEYWORDS:
respiratory infections, expression of bacterial virulence factors, immune response

Algunas bacterias que provocan neumonías intrahospitalarias no entran en el organismo a través de las células epiteliales del tracto respiratorio como se creía hasta ahora. Lo hacen a través de las uniones celulares, pasillos ensanchados por la propia inflamación del tejido. Al suceder esto, el paciente corre el peligro de que las bacterias alcancen la corriente sanguínea provocando una grave bacteriemia y la muerte. Un grupo de investigadores del Instituto de Investigación en Ciencias de la Salud (IUNICS), pertenecientes tanto al laboratorio de Microbiología de la UIB como al Hospital Universitario de Son Dureta, han podido documentar esta vía de acceso. Se abren así nuevos caminos para la obtención de fármacos que en un futuro puedan detener este tipo de neumonía en las primeras fases de la infección.

Las neumonías intrahospitalarias

La infección respiratoria fueron, a finales del siglo XX, la principal causa de mortalidad, sobre todo aquellas que afectan a las vías inferiores. El grupo que encabeza el doctor Sebastià Albertí y que está integrado tanto por investigadores de la UIB como del Hospital Son Dureta, centra su estudio en las infecciones que afectan al tracto inferior respiratorio y, en concreto, en las neumonías. Más aún, el grupo se ha volcado en el estudio de un tipo concreto de neumonía que se presenta en pacientes ingresados en unidades de vigilancia intensiva y que precisan de respiración asistida, o bien en pacientes que han sido sometidos a un trasplante y cuyos sistemas de defensa se hallan especialmente deprimidos. Nos

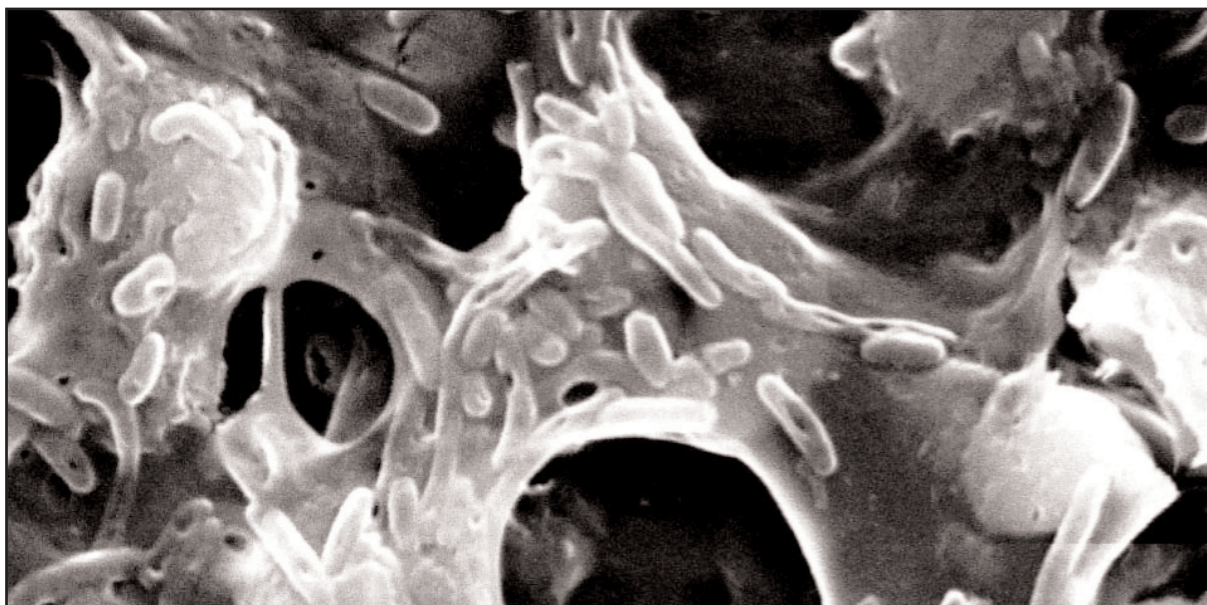


Imagen del tejido pulmonar de un ratón. Las bacterias del género Klebsiella se han situado en los espacios libres de los alvéolos.

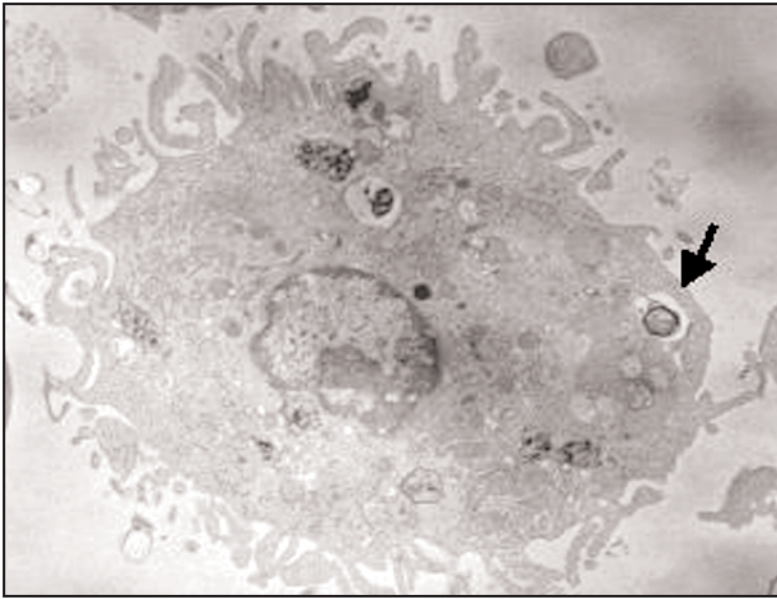


Imagen de microscopía electrónica de transmisión en la que se puede apreciar una bacteria (señalada con una flecha) fagocitada por un macrófago alveolar en el pulmón de un ratón infectado por una cepa no virulenta.

referimos a la neumonía producida por la enterobacteria *Klebsiella pneumoniae*.

Conviene diferenciar este tipo de neumonías de las llamadas comunitarias (padecidas por individuos sanos y en un ámbito distinto al hospitalario), debidas principalmente a *Streptococcus pneumoniae*. También cabe diferenciarlas de las neumonías atípicas, provocadas por otros microorganismos, tanto por bacterias como por virus.

Lo primero que abordaron los investigadores fue el conjunto de factores de virulencia que presentaba *Klebsiella* y que impedía que el sistema inmunitario fuera incapaz de eliminarla. Para iniciar la investigación, el grupo cultivó un brote virulento de la bacteria obtenido en el medio hospitalario. Una vez obtenido el brote, los investigadores definieron un modelo de infección inoculando las bacterias directamente en el pulmón de ratones. Es decir, se identificó cada fase de la infección, des de la inoculación de la bacteria hasta la muerte del animal. Los investigadores pudieron advertir que la neumonía prospera con una gran inflamación del pulmón hasta que al cuarto o quinto día se produce la muerte, precisamente 24 horas después de que la bacteria haya llegado de forma masiva a la corriente sanguínea y se haya extendido a todos los órganos.

La elaboración de un modelo de infección como este es esencial de cara a la investigación aplicada. Cualquier proyecto tendente a la síntesis de fármacos

y al estudio de la eficacia terapéutica de antibióticos para combatir la neumonía tendrá que contar previamente con la información facilitada por un modelo. Gracias a este modelo, los investigadores han reproducido lo que acontece en el interior de los pulmones de un paciente infectado por *Klebsiella*.

La invasión, paso a paso

Cuando la bacteria se introduce en los alvéolos pulmonares, las primeras células que, en teoría, se dan cuenta de la invasión de un organismo extraño son las epiteliales. Mediante el cultivo de tejido epitelial bronquial humano, los investigadores han podido comprobar que las cepas más virulentas de *Klebsiella* no entran en contacto prácticamente con las células epiteliales. En cambio, en el caso de cepas no virulentas ese contacto es plausible y las bacterias entran en las células.

Estos resultados coinciden con lo observado por un grupo de investigadores estadounidenses en el caso de otra bacteria, *Streptococcus pyogenes*. En realidad, esta comprobación ha echado por tierra la tesis aceptada por la comunidad científica, según la cual las bacterias más virulentas eran las más invasoras y las que se introducían en las células.

En este sentido, la nueva corriente científica de la que participa el estudio sobre *Klebsiella* contradice el papel de simple barrera física que hasta ahora se había dado a la célula epitelial bronquial. Por el contrario, los investigadores del Instituto Universitario de Investigaciones en Ciencia de la Salud han confirmado que las células epiteliales se comportan como verdaderas células defensivas: reconocen a la bacteria invasora, permiten su entrada y dan la orden para que se produzca una serie de mecanismos tendentes a la eliminación del extraño. Dicho de otra manera, las cepas no virulentas de *Klebsiella* no lo son por una única causa: porque las células epiteliales las reconocen e inician un mecanismo que acaba con la eliminación de las bacterias por parte de los macrófagos y neutrófilos, elementos celulares del sistema inmunitario.

El problema sobreviene cuando la célula epitelial no reconoce a la bacteria invasora. Es entonces cuando no se produce una entrada de la bacteria en la célula, sino que ésta permanece en los espacios libres, llenos de aire, de los alvéolos pulmonares, al menos en las

primeras fases de la infección. Al no ser reconocida la bacteria por la célula epitelial, no se desencadena el mecanismo defensivo ni tan eficientemente ni con la rapidez necesaria. Pero, entonces, la pregunta se hace evidente: si las bacterias virulentas no entran masivamente en las células epiteliales, ¿cómo puede la infección extenderse tan rápidamente (24 horas) alcanzando el resto de órganos del cuerpo a través de la corriente sanguínea? ¿Cómo llegan las bacterias a los vasos para provocar una bacteriemia?

El paso a través de las uniones celulares

El grupo de investigadores ha podido comprobar, en cultivos de células broncoepiteliales humanas, que la bacteria aprovecha las uniones entre células para acceder al endotelio y de ahí pasar a la corriente sanguínea. Utiliza por tanto la misma vía de acceso que las células del sistema defensivo para llegar desde la sangre al tejido infectado. En condiciones normales estas uniones celulares están cerradas, abriéndose cuanto el tejido inflamado deja pasar las células defensivas.

Evidentemente, el modelo surgido del estudio de las uniones celulares y del esclarecimiento de las condiciones que facilitan el paso de bacterias es masivo (condiciones que se cumplen en pacientes hospitalizados con sus sistemas de defensa deprimidos) supondrán una base muy sólida para el posterior desarrollo de fármacos capaces de detener esta fase de la infección, antes de que las bacterias alcancen la corriente sanguínea. El modelo también es aplicable a bacterias del género *Pneumococcus*, que presenta un comportamiento análogo como patógeno extracelular.

El control de la inflamación y el papel de la cápsula bacteriana

De otra parte, los investigadores han centrado parte de sus esfuerzos en tratar de controlar el proceso inflamatorio en este tipo de infecciones. La inflamación es positiva en los primeros momentos de la infección por cuanto constituye un aviso para el sistema inmunológico. Sin embargo, una vez conseguida esa primera reacción inmunológica y habiendo fracasado, la inflamación continúa produciendo un daño en el tejido pulmonar y, sobre

todo, favoreciendo el paso de bacterias a través de las uniones celulares ahora ensanchadas para dejar pasar a los neutrófilos desde los vasos sanguíneos al tejido.

El grupo de investigadores ensaya, por tanto, la utilización de fármacos que reduzcan la inflamación o más concretamente que consigan un equilibrio entre lo que es necesario y lo que es perjudicial.

El proyecto que encabeza el doctor Albertí ha abordado también el estudio de la cápsula de *Klebsiella*, después de comprobar que es en la pared celular bacteriana donde se encuentra el factor de mayor virulencia, la barrera que imposibilita a los macrófagos eliminarla. Los experimentos realizados en animales de laboratorio han confirmado que las bacterias sin cápsula no provocan ningún tipo de infección y que son fácilmente reconocidas y destruidas por los macrófagos del sistema inmunológico. El problema reside en que las bacterias mutan rápidamente variando la composición química de los polisacáridos constituyentes de esa pared celular o cápsula, haciendo muy difícil que las vacunas elaboradas para que los anticuerpos puedan reconocerlas sean efectivas.

Otras líneas de investigación del mismo grupo se centran en el ensayo de diferentes tratamientos antibióticos para combatir las infecciones bacterianas productoras de neumonía. En este caso se parte de cepas de bacterias que se han hecho resistentes a los antibióticos más comúnmente utilizados. En conjunto se trata de una investigación dirigida hacia múltiples frentes con el objetivo de comprender cómo se producen las infecciones y, por tanto, cómo poder combatir las.

Imagen de microscopía electrónica de transmisión en la que se aprecian bacterias adheridas al epitelio alveolar o bien en las vacuolas del interior de las células epiteliales. Corresponde a tipo de neumonía en ratón.



El doctor
Sebastià Alberti,
investigador
responsable del
proyecto.



Proyectos financiados

Referencia: FIS00-0486. Fondo de Investigación Sanitaria.

Título: Regulación de la expresión de cápsula y su relación con la respuesta inmunitaria en las infecciones respiratorias causadas por *Streptococcus pneumoniae* y *Klebsiella pneumoniae*.

Entidad financiadora: Ministerio de Sanidad y Consumo.

Centro: IUNICS

Referencia: FIS01-0765. Fondo de Investigación Sanitaria.

Título: Estudio del papel del antígeno O del lipolisacárido y del polisacárido capsular en las neumonías causadas por *Klebsiella pneumoniae*.

Entidad financiadora: Ministerio de Sanidad y Consumo.

Centro: IUNICS

Referencia: 95-0453. PETRI.

Título: Evaluación del análisis del óxido nítrico exhalado para la monitorización de las infecciones bacterianas en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

Entidad financiadora: Ministerio de Ciencia y Tecnología.

Centro: IUNICS

Referencia: FIS01-0034-2. Fondo de Investigación Sanitaria.

Título: Estudio de la eficacia terapéutica en un modelo de neumonía experimental por *Klebsiella pneumoniae* resistente.

Entidad financiadora: Ministerio de Sanidad y Consumo.

Centro: IUNICS

Referencia: FIS01-0034-1. Fondo de Investigación Sanitaria.

Título: Caracterización de mecanismos de resistencia a antibióticos en *Klebsiella pneumoniae* debido a alteraciones en la permeabilidad.

Entidad financiadora: Ministerio de Sanidad y Consumo.

Centro: IUNICS

Referencia: FIS02-0977. Fondo de Investigación Sanitaria.

Título: Análisis del papel de las células epiteliales de pulmón en las neumonías bacterianas.

Entidad financiadora: Ministerio de Sanidad y Consumo.

Centro: IUNICS

Investigador responsable

Dr. Sebastià Albertí Serrano

Laboratorio de Microbiología. Departamento de Biología.

Edificio Guillem Colom Casanovas. Campus de la UIB.

Tel. 971 17 53 34 / 971 17 33 53

salberti@hsd.es

Otros miembros del equipo

Núria Borrell, profesora asociada del Laboratorio de Microbiología y médico del Servicio de Microbiología del Hospital Son Dureta.

Antonio Doménech-Sánchez, becario.

Mercedes Urdiain, becaria.

Beatriz de Astorza, becaria.

Guadalupe Cortés, becaria.

Marta Franco, becaria.

Teresa de Francisco, técnica superior de la UIB.

Isabel García, becaria.

Catalina Crespi, técnica superior del CIS.

Maria Antonia Oliver, becària.

Publicaciones (2002 - 2004)

Cortés, G., Álvarez, D., Saus, C., Albertí, S. Role of the lung epithelial cells against *Klebsiella pneumoniae* pneumonia. *Infection and Immunity*. 70: 1075-1080 (2002)

Cortés, G. Borrell, N., de Astorza, B., Gómez, C., Sauleda, J., Albertí, S. Molecular analysis of the contribution of the capsular polysaccharide and the lipopolysaccharide O side chain to the virulence of *Klebsiella pneumoniae* in a murine model of pneumonia. *Infection and Immunity*. 70: 2583-2590 (2002)

Cortés, G., de Astorza, B., Benedí, V.J., Albertí, S. Role of the htrA gene in *Klebsiella pneumoniae* virulence. *Infection and Immunity*. 70: 4772-4776 (2002)

Albertí, S., García-Rey, C., Domínguez, M. A., Aguilar, L., Cercenado, E., Gobernado, M., García-Perea, A. And the Spanish surveillance group for respiratory pathogens. Survey of emm gene sequences from pharyngeal *Streptococcus pyogenes* isolates collected in Spain and their relationship with erythromycin susceptibility. *Journal of Clinical Microbiology* 41: 2385-2390 (2003)

Doménech-Sánchez, A., Martínez-Martínez, L., Hernández-Allés, S., Conejo, M.C., Pascual, A., Tomás, J.M., Albertí, S., Benedí, V.J. Role of *Klebsiella pneumoniae* OmpK35 porin in antimicrobial resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 70: 4772-4776 (2003)

Yigit, H., Queenan, A. M., Anderson, G. J., Biddle, J. W., Steward, C. D., Dómenech-Sánchez, A., Albertí, S., McGowan, J. E., Bush, K., Tenover, F. C. Characterization of a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella oxytoca* harboring the KPC-2 carbapenemase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 47: 3881-3893 (2003)

De Astorza, B, Cortés, G ., Crespi, C., Saus, C., Rojo, J. M. , Albertí, S. C3 promotes clearance of *Klebsiella pneumoniae* by A549 epithelial cells. *Infection and Immunity*. 72: 1769-1774 (2004)