

Mecanismos de interacción de *Salmonella* con la mucosa intestinal

Miryam Margot Sánchez Jiménez^{1,2,3}
Nora María Cardona Castro¹

Resumen

Salmonella es una de las bacterias patógenas más ampliamente estudiada en cuanto a su fisiología, genética, estructura celular y patogénesis, principalmente el serotipo Typhimurium, debido a su fácil manejo en el laboratorio, posibilidad de manipulación con técnicas moleculares y por tener un modelo animal como es el ratón, que permite realizar experimentos in vivo.

Después de la ingestión, la bacteria resiste el ambiente ácido del estómago y seguidamente coloniza el intestino delgado, logrando entrar en las células epiteliales, sus células blanco, en un fenómeno de invasión mediado por "ruffling" de membrana de la célula epitelial; esta interacción de *Salmonella* y las células hospederas es íntima y compleja, explotando así la bacteria las funciones celulares preexistentes del hospedero para su propio beneficio.

La presente revisión recopila información acerca de los conceptos de islas de patogenicidad, sistemas de secreción, proteínas translocadoras, los mecanismos involucrados en el proceso de invasión que *Salmonella* utiliza para entrar a la célula eucariótica, los diferentes acercamientos realizados para conocer los mecanismos por los cuales *Salmonella* logra pasar barreras y manipular las células del hospedero en sitios específicos a lo largo del curso de la infección y propuestas sobre las vías de señalización que esta bacteria utiliza para entrar a la célula epitelial. **Palabras claves:** *Salmonella*, ruffling, patogénesis, islas de patogenicidad, sistemas de secreción, vías de señalización. b

Infectio 2003; 7(1): 22-29

Introducción

La Salmonelosis es un problema de salud pública en países en desarrollo de Latinoamérica, Asia y Africa, con rangos de prevalencia desde 200 a 500 casos por 100.000 habitantes (1). Entre las Salmonelosis encontradas en países en desarrollo está la fiebre tifoidea producida por *Salmonella enterica* serovar Typhi y Paratyphi, la cual es una infección severa que puede producir complicaciones y muerte. Las salmonelosis producidas por *Salmonella* non-Typhi son también importantes en países en desarrollo, donde se reportan brotes de infección intestinal (1).

En Colombia no se conocen con exactitud los datos correspondientes a prevalencia, siendo la mayoría de las veces el diagnóstico clínico y no confirmado con cultivos bacteriológicos. Durante los años 2000 -2001 se reportaron 336 aislamientos de *Salmonella spp* en el país, 294 provenientes de material clínico humano y 41 de alimentos (2).

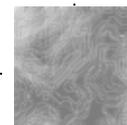
Las primeras descripciones acerca de *Salmonella* se remontan a finales del siglo XIX (1885), cuando fue llamada así por el patólogo Salmon quien la aisló de intestinos porcinos y la utilizó para vacunas; fué cultivada por Gaffky en 1884 (3).

1 Instituto Colombiano de Medicina Tropical, Medellín, Colombia.

2 Estudiante de Maestría. Corporación Ciencias Básicas Biomédicas, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

3 Joven Investigador de Colciencias.

Correspondencia: M.M Sánchez Jiménez. Instituto Colombiano de Medicina Tropical, Cra 43A # 52 sur – 99, Medellín Colombia. Tel: (04) 3014300; Fax: (4) 3014258. E-mail: icmt@epm.net.co



Son bacilos gram negativos, pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, la mayoría de serotipos son móviles por la presencia de flagelos peritricos, a excepción de *Salmonella Pullorum*.

Su clasificación es muy compleja. Actualmente los Centros para el Control de la Enfermedad de Atlanta, Estados Unidos (CDCP), utilizan un sistema de clasificación en el cual sólo se reconocen dos especies: *S. enterica*, en donde están incluidos 2443 serotipos, y que se encuentra subdividida en seis subespecies:

I *enterica*, II *salamae*, IIIa *arizonae*, IIIb *diarizonae*, IV *houtenae*, VI *indica*, de las cuales solamente una (*S. enterica* subespecie *enterica* (I)) esta asociada con infecciones en el hombre y animales de sangre caliente y *S. bongori* en la que están incluidos 20 serotipos (4).

Existen dos cuadros clínicos principales de infección por *Salmonella*: gastroenteritis, que es la forma más común de salmonelosis producida por un gran número de serotipos principalmente *S. enteritidis* y *S. typhimurium*, y fiebre entérica que puede ser tifoidea, producida por *S. typhi*, y paratifoidea, que es una forma leve de la enfermedad producida por *S. paratyphi* A, B y C, los cuales solo afectan al humano el cual es el único reservorio conocido. En algunos casos, *Salmonella spp* puede producir bacteremia e infecciones focales localizadas como osteomielitis (5).

En la mayoría de los casos, la enfermedad no es el resultado del daño de tejido causado por la infección bacteriana, sino por la reacción del hospedero a los potentes factores pro inflamatorios liberados por la bacteria, como es el caso de la diarrea inflamatoria inducida por la liberación de los gránulos de los neutrófilos, que posterior a la invasión de la mucosa son atraídos por el quimioatrayente epitelial estimulado por patógenos (PEEC) y la producción por parte de las células de la mucosa de citoquinas proinflamatorias como la interleukina (IL8) (6).

El reservorio animal se mantiene por contacto entre animales y el hombre y por el empleo de utensilios contaminados con *Salmonella*. Algunos serotipos presentan especificidad por un hospedero como es el caso de *S. typhi* y *S. paratyphi*, que causan enfermedad en el humano y no en otros hospederos; otros serotipos como *S. choleraesuis* están adaptadas a los animales, pero cuando infectan a los humanos pueden causar enfermedad grave. Otros serotipos no muestran especificidad de hospedero y causan enfermedad, tanto en el hombre

como en animales. La mayoría de las infecciones se presentan por la ingestión de agua o alimentos contaminados (7).

Adhesión

Antes de invadir cualquier tipo de célula, la bacteria debe encontrar y adherirse a uno o más tipos de células del tejido intestinal. Algunos mecanismos de adhesión pueden involucrar varios tipos de fimbrias o pili, cuatro de los cuales están definidos genéticamente: fimbria tipo 1 (fim), fimbria codificada por plásmidos (pef), fimbria polar larga (lpf) y fimbria agregativa delgada (Curli) (agf/csg).

Es posible que las fimbrias ayuden a la bacteria a conseguir contacto cerrado con las células hospederas y además a permitir la interacción de factores que estimulan la migración transepitelial de neutrófilos.

La presencia de por lo menos estos cuatro sistemas fimbriales sugiere que la adhesión a superficies celulares y no celulares puede ser un paso crítico en la supervivencia de *Salmonella* en el medio ambiente, ya que ésta responde a factores del medio como pH y osmolaridad (8).

Patogénesis

Aunque la exposición a *Salmonella* es frecuente, se requiere de un inóculo de aproximadamente 10^6 - 10^8 bacterias para el desarrollo de la enfermedad sintomática; otros factores como el tipo de cepa, qué alimento es consumido con la bacteria y el estado fisiológico del hospedero, también favorecen o no el desarrollo de la enfermedad.

Salmonella debe pasar barreras y manipular las células del hospedero en sitios específicos a lo largo de curso de la infección. Después de la ingestión, la bacteria resiste el ambiente ácido del estómago y seguidamente coloniza el intestino delgado, penetra las células epiteliales y migra a la lámina propia de la región ileocecal, se multiplica en los folículos de la región linfoide presentándose hiperplasia e hipertrofia reticuloendotelial. Los polimorfonucleares neutrófilos son estimulados y la infección se limita, en el caso de enteritis, a nivel del tracto gastrointestinal. Si son serotipos productores de fiebre entérica no son retenidas a este nivel sino que migran a hígado y bazo por circulación hemática. La respuesta inflamatoria media también la liberación de prostaglandina, estimula la producción de AMP cíclico y la secreción activa de líquidos, produciendo diarrea en el caso específico de la enteritis (7).

Para conseguir información acerca del progreso de la enfermedad en humanos, Kent y col en 1966 infectaron monos Rhesus y examinaron la colonización e histopatología de varios órganos en varios días post infección y observaron infiltrado de polimorfonucleares neutrófilos en la mucosa (9).

En 1967 Takeuchi y Sprinz, realizaron el primer y más detallado estudio a nivel ultraestructural de una infección por *Salmonella* usando el ileo de curí, como modelo animal (10).

Salmonella establece un estrecho contacto con el borde en cepillo del epitelio intestinal, antes del contacto inicial, el borde permanece intacto. Sin embargo, cuando la bacteria se acerca a la superficie epitelial, las microvellosidades circundantes empiezan a degenerarse con elongación, edema y crecimiento en un proceso llamado *ruffling* (rizado). Aquí, los efectores interactúan con las proteínas de la célula hospedera para reorganizar el citoesqueleto de actina e inducir cambios morfológicos que en últimas causan que estas células, normalmente no fagocíticas, internalicen la bacteria en un proceso llamado invasión.

Otros autores han utilizado diferentes modelos animales como terneras (11), conejos (12, 13, 14) y ratones (15,16) para estudiar este proceso de invasión.

El hecho de que interacciones similares entre *Salmonella* y la mucosa intestinal ocurran en por lo menos cuatro diferentes modelos mamíferos, sugirió que en la misma forma sucedía durante las infecciones humanas.

Actualmente los ratones son usados como un modelo animal primario de infección debido a su susceptibilidad a la infección por *Salmonella* serotipo *typhimurium*, que produce en los ratones una infección similar a la fiebre tifoidea producida por el serotipo *typhi* en los humanos.

Estudios realizados en ratones para observar la invasión de *Salmonella* serotipos *typhi* y *typhimurium* (15,16) demostraron que solo invadían las células M en forma casi exclusiva, asociado con numerosas bacterias y destrucción.

No es claro por qué se observó este fenómeno en ratones y no en otros modelos animales. Posiblemente se debió al modelo escogido, el método de inoculación, el tiempo de observación y las diferencias en las cepas probadas. Pero independientemente del modelo animal, una manifestación temprana de la interacción hospedero - patógeno es la adhesión e invasión al epitelio

intestinal por la bacteria y la subsecuente inflamación de la lámina propia y los nódulos linfáticos (8).

Invasión de la mucosa

Varios estudios han mostrado que la *Salmonella* preferencialmente se une e invade las células en la placa de Peyer del intestino delgado en ratones infectados oralmente, sin embargo las bacterias pueden también ser encontradas en enterocitos no fagocíticos. Las interacciones entre especies de *Salmonella* y células hospederas son íntimas y complejas. Esta bacteria es hábil en explotar las funciones celulares pre existentes del hospedero y usar estas funciones para su propio beneficio. Esto se ha visto durante la invasión, cuando *Salmonella* utiliza las señales de transducción del hospedero, lo cual afecta el re arreglo del citoesqueleto y proteínas superiores de membrana produciendo *ruffling* de membrana y la invasión bacteriana. También ocurre cuando *Salmonella* está dentro de una vacuola ligada a la membrana tanto en células epiteliales como macrófagos (8).

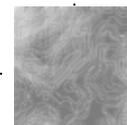
Sistemas de secreción

Una característica esencial de la patogenicidad de *Salmonella* es su habilidad de engañar a la célula hospedera en una interacción bioquímica denominada de dos vías o conversación cruzada, lo cual conduce a la respuesta tanto de la bacteria como de la célula hospedera.

Salmonella responde a la presencia de la célula hospedera por activación de un sistema especializado de secreción de proteínas llamado Tipo III o dependiente de contacto (17). Este sistema permite a ciertos bacilos gram negativos secretar e inyectar proteínas de patogenicidad en el citosol de la célula hospedera eucariótica, y se ha encontrado en *Yersinia*, *Erwinia*, *E. coli* enteropatógena, *Shigella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Chlamydia* y en patógenos de plantas como *Pseudomonas syringae*.

Las proteínas inyectadas frecuentemente reensamblan factores eucarióticos con funcionamiento de señales de transducción y son capaces de interferir con vías de señalización de la célula hospedera (18).

En el caso de *Salmonella*, la redirección de señales celulares de transducción resulta en la reorganización del citoesqueleto de la célula hospedera, estableciendo nichos subcelulares para colonización bacteriana y facilitando una estrategia patogénica altamente adaptada de líneas de



comunicación con la defensa del hospedero. La interacción de patógenos bacterianos dentro de las células hospederas, está particularmente caracterizada por factores que están localizados en la superficie bacteriana o son secretados en el espacio extracelular (19).

El término "secreción" es usado para describir el transporte activo de proteínas del citoplasma a través de las membranas internas y externas en el sobrenadante bacteriano o en la superficie de la célula bacteriana. La secreción es distinta de la exportación, la cual se refiere al transporte de proteínas del citoplasma en el espacio periplásmico.

Existen cinco tipos de sistema de secreción, que se diferencian en la forma en que las proteínas son transportadas a través de la membrana externa al espacio periplásmico. Todos los sistemas de secreción utilizan la energía obtenida por la hidrólisis del ATP para transportar las proteínas. Los sistemas de secreción Tipo I y Tipo III transportan las proteínas directamente del citoplasma de la bacteria hasta el citoplasma de la célula eucariótica, sin pasar por el periplasma. El sistema de secreción tipo II funciona de manera diferente, la proteína que se encuentra en el citoplasma de la bacteria no pasa directamente a la célula eucariótica, tiene un paso intermedio en el periplasma de la bacteria donde sufre un proceso de descarboxilación en el N – terminal, haciendo que la proteína que sale a la célula eucariótica sea diferente a la que se encuentra en el citoplasma de la bacteria. El sistema de secreción tipo II y tipo III tienen en común la parte que se encuentra en la membrana externa de la bacteria.

Salmonella es la única bacteria descrita que contiene dos sistemas de secreción tipo III; estos son maquinarias dedicadas a la translocación de proteínas que permiten a las proteínas bacterianas de patogenicidad ser liberadas directamente en el citosol de células hospederas eucarióticas.

El análisis de la bioquímica de los factores de patogenicidad secretados por el sistema tipo III han producido fascinantes conocimientos dentro de sofisticadas y altamente adaptadas interacciones bacteria - hospedero lo cual conduce a la remodelación de la bioquímica de la célula hospedera y vías de transducción de señales para facilitar la infección bacteriana, colonización y replicación dentro del hospedero (20).

Islas de patogenicidad

Los dos sistemas de secreción tipo III de *Salmonella* son codificados en dos distintos grupos

de genes llamados islas de patogenicidad 1 y 2 (SPI 1 y SPI 2), los cuales parecen jugar dos papeles diferentes durante la patogénesis, SPI 1 es requerida para la penetración inicial a la mucosa intestinal y SPI 2 necesaria para los estados subsecuentes de infección sistémica.

El término SPI fue utilizado inicialmente para describir dos grandes e inestables piezas de DNA cromosomal en *E. coli* enteropatógena, que codifica un número de proteínas reguladoras importantes para la virulencia. Desde su concepción el término ha evolucionado para incluir regiones de expresión de DNA cromosomal esencial para la patogenicidad que no parece ser propio (21).

Aparatos de genes y proteínas secretadas

La isla de patogenicidad I es requerida para el ingreso de *Salmonella* a la célula hospedera, está localizada en su centísoma 63 y en ella se encuentran genes implicados en su patogenicidad. Está dividida en dos grupos de genes que codifican la maquinaria de secreción para invadir la mucosa: *inv-spa* y *prg-org* (7); estos genes se encargan de codificar proteínas que cumplen con diversas funciones en el proceso de invasión (tabla 1) (8).

Proteínas secretadas

Otros genes codifican proteínas involucradas en el proceso de invasión, que son secretadas al interior de la célula hospedera, translocando las señales celulares del hospedero, induciendo la activación de efectores que producen disrupción del citoesqueleto de la célula hospedera y la internalización de la bacteria, y en los macrófagos induciendo apoptosis (tabla 2) (8).

Proteínas reguladoras

Los genes de SPI 1 son expresados en forma máxima a 37C y bajo condiciones de oxígeno limitado, además la expresión es óptima a pH neutro, a alta osmolaridad, y durante la última fase de crecimiento logarítmico. La expresión de los genes de invasión también requiere la proteína reguladora central HilA, la cual es codificada por el gen *hilA* en SPI 1, la proteína HilA es requerida para la expresión del sistema de secreción tipo III (22). El gen *hilA* es un regulador transcripcional de genes de invasión, su expresión es activada por la proteína SirA que es codificado por el gen *sirA*; la proteína se cree que es estimulada por dos vías mutuamente independientes: la activación por la proteína Bar A

TABLA 1

Aparatos de genes de la isla de patogenicidad 1 (SPI 1) de *Salmonella* spp.

Genes	Función
<i>InvH</i>	Codifica proteína que actúa como factor de adhesión y componente estructural del complejo aguja del aparato de secreción tipo III.
<i>InvG</i>	Codifica proteína estructural del complejo aguja del aparato de secreción tipo III.
<i>invE</i>	Codifica proteína requerida para la invasión in vitro.
<i>invA</i>	Codifica proteína necesaria para invasión.
<i>invB</i>	Desconocida.
<i>invC</i>	Codifica proteína que interactúa con otros componentes del aparato de secreción tipo III para facilitar la translocación de proteínas fuera de la célula.
<i>invI (spaM)</i>	Codifica proteína necesaria para invasión in vitro.
<i>spaP, Q, R</i>	Requeridos para invasión y para la secreción de SipB, SipC e InvJ.
<i>spaS</i>	Requerido para la secreción de proteínas.
<i>prgH</i> (gen reprimido por <i>phoP</i>)	Codifica la proteína PrgH, componente estructural del complejo aguja.
<i>prgI</i> y <i>prgJ</i>	Desconocida.
<i>prgK</i>	Codifica proteína componente estructural del complejo aguja.
<i>orgA</i> (gen regulado por oxígeno)	Codifica proteína requerida para invasión de células epiteliales en cultivo y para citotoxicidad en macrófagos.

TABLA 2

Proteínas secretadas por el Sistema de Secreción Tipo III (SSIII) de la isla de patogenicidad 1 (SPI 1) de *Salmonella* spp.

Proteína	Función
SipA	Invasión
SipB	Translocación, apoptosis.
SipC	Translocación.
SipD	Translocación.
InvJ/SpaN	Secreción.
SpaO	Secreción.
SptP	Disrupción del citoesqueleto, colonización esplénica.
SopE	Reorganización del citoesqueleto, invasión.
SigD/SopB	Invasión, señalización transepitelial de PMN.
AvrA	No determinada.

que es una sensor kinasa que tiene como blanco a SirA o la fosforilación de SirA dada por la intervención del intermediario metabólico, acetil fosfato (23). Actualmente se conoce que el gen *hilD* también reprime la expresión de *hilA* cuando las condiciones ambientales no son favorables para la invasión (24). La expresión de *hilA* también es regulada por PhoP - PhoQ un sistema de dos componentes que gobierna la virulencia, mediante la adaptación a medios ambientes limitados en magnesio y regula numerosas actividades celulares en varias especies

de gram negativos entre ellos *Salmonella* (25). Con base en el conocimiento de estos genes de invasión se han desarrollado pruebas diagnósticas como la reacción en cadena de la polimerasa para detección del gen *hilA* en muestras clínicas (26).

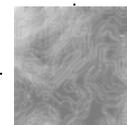
Aunque varios reguladores han sido implicados en la expresión de genes de invasión, ninguno ha sido concluyentemente determinado de interactuar con algún promotor.

El gen *invF* se encuentra en SPI 1 y activa a otros genes de la isla de patogenicidad como los genes *sip*. Este gen *invF* es dependiente de SirA y HilA, los mecanismos por los cuales estos activadores regulan la expresión de *invF* no se conocen bien; sin embargo, evidencia preliminar sugiere que Hil A directamente se une al promotor de *invF* (27).

Origen genético de las islas de patogenicidad

No todas las islas de patogenicidad son genéticamente inestables pero muestran un origen extraño. Estas piezas de DNA frecuentemente no están en bacterias no patógenas relacionadas. Se cree que las islas de patogenicidad y por ende los sistemas tipo III fueron adquiridos horizontalmente a través de una bacteria facilitadora en un "salto cuántico evolucionario" en patogénesis bacteriana (19).

El sistema de secreción tipo III está compuesto por una organela considerable llamada el complejo aguja. La arquitectura de este complejo semeja el complejo cuerpo basal del gancho flagelar, sugiriendo



una relación evolucionaria entre estas dos estructuras. El complejo aguja se extiende entre la membrana interna y externa de la pared bacteriana. Está compuesto de dos pares de anillos internos y externos que presumiblemente anclan la estructura a la membrana interna y externa de la pared bacteriana. Los anillos están conectados por una estructura como de vara, las cuales forman la base del complejo. Una estructura aguja de 80 nm de longitud sobresale afuera de la base del complejo. La estructura entera es de 100 nm de largo y de 40 nm en diámetro en la parte más ancha.

El sistema de secreción tipo III del centisoma 63 dirige la exportación de varias proteínas como ATPasas, proteínas regulatorias y estructurales, formadoras de canales, lipoproteínas, moléculas efectoras para células hospederas, chaperonas, etc. Algunas de estas proteínas transitoriamente ensamblan una estructura apendicular llamada invasoma (18), mientras otras son translocadas en la célula hospedera donde ellas activan o interfieren con las vías de transducción de señales célula-hospedero conduciendo a una variedad de respuestas.

Estas respuestas son dependientes del tipo de célula infectada. En células no fagocíticas, *Salmonella* induce cambios en la membrana plasmática de la célula hospedera, y profundos rearrreglos del citoesqueleto que se parecen estructuralmente al *ruffling* de membrana inducido por varios agonistas, como hormonas, factores de crecimiento, activación de oncogenes celulares, etc. El *ruffling* de membrana es acompañado por macropinocitosis que en últimas conduce a la internalización bacteriana.

En macrófagos la *Salmonella* induce efectos citotóxicos caracterizados inicialmente por una rápida inhibición del *ruffling* de membrana y macropinocitosis, seguido por la inducción de muerte celular apoptótica (28).

Vías de señalización celular inducidas por *Salmonella*

Existen diferentes propuestas sobre las vías de señalización inducidas por proteínas inyectadas por *Salmonella* que provocan rearrreglo del citoesqueleto de la célula eucariótica e internalización de la bacteria.

Una vía es la propuesta por Brett Finlay y colaboradores (29) quienes proponen que la *Salmonella* inyecta en la célula eucariótica las

proteínas SopE y SptP transportadas por el sistema de secreción tipo II e inyectadas por el complejo en aguja en la célula eucariótica, donde Sop E activa las proteínas CDC42, que están en forma inactiva en el citoplasma de la célula eucariótica ligando GDP, al activarse esta proteína CDC42 liga GTP, aumentando la fosfolipasa G y por medio de los segundos intermediarios inositol trifosfato y diacil glicerol aumenta la concentración de calcio permitiendo el re arreglo del citoesqueleto. La proteína SptP estaría implicada en la fosforilación de los residuos de tirosina de receptores ubicados al nivel de la membrana de la célula eucariótica, produciéndose así también la disrupción del citoesqueleto y el *ruffling* de membrana.

La otra vía de señalización propuesta es la del grupo de trabajo del Dr. Jorge Galán (18), quien dice que la *Salmonella* inyecta por medio del complejo en aguja proteínas transportadas por medio del sistema de secreción tipo III como SopE, SopB que al ingresar en la célula eucariótica activan las proteínas Cdc42 y Rac1 que ligan GDP que se encontraban inactivas pasando el GDP a GTP.

Estando Cdc42 y Rac 1 activadas induce la activación de la quinasa p21 que a su vez activa a la proteína quinasa activada por mitógenos iniciándose una cascada de señalización de segundos mensajeros como P38, Jan quinasa e inositol kappa beta, kappa alfa que inducen el factor nuclear kappa beta y el inositol kappa beta, toda esta señalización produce la activación de respuesta nuclear en la célula eucariótica.

Se cree que las proteínas Cdc42 y Rac1 también podrían activar la proteína del síndrome de Wiscot Aldrich que estaría involucrada en el rearrreglo del citoesqueleto de actina.

Otra vía señalizada por Cdc42 y Rac1 es por medio de la fosfolipasa A2 que degrada el ácido araquidónico en varios compuestos por intermedio de la 5 lipooxigenasa produciendo leucotrienos A4, C4 y D4 que se cree, aumentan la permeabilidad de la membrana celular eucariótica permitiendo la entrada de calcio y produciendo el rearrreglo del citoesqueleto o *ruffling* de membrana que permite la entrada de *Salmonella* sin que la célula eucariótica oponga resistencia.

Estas dos vías presentan elementos en común y son muy aceptadas para explicar cómo sucede la entrada de *Salmonella* a las células epiteliales del intestino delgado. Estas señales inducidas por *Salmonella* son de vida corta. Después de la

infección bacteriana las células hospederas retoman su morfología normal. Este fenómeno es mediado por la proteína SptP que también es liberada por el sistema de secreción tipo III y vuelve a su estado inactivo a las proteínas Cdc42 y Rac 1.

El entendimiento de las vías de transducción de señales de la célula hospedera que son activadas por *Salmonella*, los determinantes bacterianos responsables de activar estas vías de señalización, y los mecanismos por los cuales la bacteria estimula la respuesta celular por el contacto cercano con las células hospederas, son el punto de partida para desarrollar estrategias a mediano y largo plazo de prevención de las infecciones producidas por *Salmonella*, como por ejemplo vacunas, mediante el bloqueo de genes como los descritos anteriormente que están involucrados en el proceso de invasión.

Expresión de genes de *Salmonella* in vivo

Adicionalmente a las propuestas sobre regulación de la expresión de los genes involucrados en la invasión, actualmente se conoce que muchas funciones de virulencia de este patógeno son inducidas durante la infección pero no son expresadas o la expresión es relativa cuando las células están creciendo en medio sintético, es decir los genes están "prendidos" (*On*) in vivo y "apagados" (*Off*) in vitro.

La tecnología de expresión in vivo IVET se emplea para identificar genes inducidos in vivo *ivi*, por su sigla en inglés, muchas de cuyas funciones están implicadas en virulencia, y que son expresada en ambientes específicos, los genes *ivi* se expresan exclusivamente durante la infección. La proteína Dam codificada por el gen *dam* es una candidata para actuar como interruptora de los genes *ivi*, en los que podemos incluir la mayoría de los genes de las islas de patogenicidad 1 y 2 de *Salmonella*, convirtiéndose así el gen *dam* en regulador durante la invasión (30).b

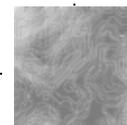
Abstract

Salmonella is a pathogenic bacteria extensively studied respect to physiology, genetic, celular structure and pathogenesis. *Salmonella* serovar Typhimurium is easy to handle with molecular techniques and an animal model is available to do in vivo assays. In the human body; the bacteria resist the acid environment of stomach and colonize the small intestine, obtaining to entrance to the epithelial cells, the target cells, in a invasion phenomenon

mediated by membrane ruffling of epithelial cells; this interaction between *Salmonella* and host cells is intimate and complex. The bacteria use the pre existent functions of the host, for the own survival. The present review put together information about pathogenicity island, secretion systems, translocation proteins, the involved mechanisms in the invasion process that *Salmonella* uses to invade eucaryotic cells, the different approaches realized to know the mechanisms by mean *Salmonella* pass barriers and to use the host cells in specific sites in the infection course and the proposal about signaling pathways that these bacteria use to entrance to epithelial cells. **Key words:** *Salmonella*, ruffling, pathogenesis, pathogenicity island, secretion systems, signaling pathways.

Referencias

1. **Miller I.S., Hohmann E.L., Pegues D.A.** *Salmonella* (Including *Salmonella typhi*). In: Mandel, Douglas and Bennett, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th ed., Churchill Livingstone, New York; 1995.p. 2013 - 33.
2. **Muñoz N, Agudelo CI, Realpe ME, Ovalle MV et al.** Vigilancia en red de la susceptibilidad antimicrobiana y de los serotipos de *Salmonella spp.*, *Shigella sp.* y *Vibrio cholera*: Informe de 2000 - 2001. Inf Quinc Epidemiol Nac 2002; 7: 184-88.
3. **Le minor L.** The genus *Salmonella*. In: Balows A, Trufer HG, Dworkin M, Harder W, Schleifer KH, editors. The prokaryotes. 2nd ed. London: Springer - Velog; 1992. p. 2760-74.
4. **Brenner FW, Villar RG, Angulo FJ, Tauxe R, Swaminathan B.** *Salmonella* nomenclature. J Clin Microbiol 2000. 38: 2465-67.
5. **Posada B.** Salmonellosis. En: Restrepo A, Robledo J, Bedoya VI, Restrepo M, Botero D, Leiderman E, et al, editores. Fundamentos de medicina. Enfermedades infecciosas. 5a ed. Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas, CIB editores; 1996. p. 427- 30
6. **Lee CA, Silva M, Siber AM, Kelly AJ, Galyov E, McCormick J.** A secreted *Salmonella* protein induces a proinflammatory response in epithelial cells, wich promotes neutrophil migration. Proc Natl Acad Sci USA 2000; 97: 12283-88.
7. **Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA.** *Salmonella*. In: Michael Braun Ed. Medical Microbiology. 3a ed. St Louis: Mosby Inc; 1998. p. 237-39.
8. **Darwin KH, Miller VL.** Molecular basis of the interaction of *Salmonella* with the intestinal mucosa. Mol Microbiol Rev 1999; 12: 405-28.
9. **Kent TH, Formal SB, Labrec EH.** *Salmonella* gastroenteritis in Rhesus monkeys. Arch Pathol. 1966; 82: 272-79.



10. **Takeuchi A, Sprinz H.** Electron-microscope studies of experimental *Salmonella* infection in the preconditioned guinea pig. II. Response of the intestinal mucosa to the invasion by *Salmonella typhimurium*. *Am J Pathol* 1967; 50: 137-61.
11. **Smith HW, Jones JET.** Observations on experimental oral infection with *Salmonella dublin* in calves and *Salmonella choleraesuis* in pigs. *J Pathol Bacteriol* 1967; 93: 141-56.
12. **Wallis TS, Hawker RJH, Candy DCA, Qi GL, Clarke GJ, Worton KJ et al.** Quantification of the leucocyte influx into rabbit ileal loops induced by strains of *Salmonella typhimurium* of different virulence. *J Med Microbiol*. 1989; 30: 149-56.
13. **Wallis TS, Starkey WG, Stephen J, Haddon SJ, Osborne MP, Candy DCA.** The nature and role of mucosal damage in relation to *Salmonella typhimurium*-induced fluid secretion in the rabbit ileum. *J Med Microbiol* 1986; 22: 39-49.
14. **Worton KJ, Candy DCA, Wallis TS, Clarke GJ, Osborne MP, Haddon SJ, Stephen J.** Studies on early associations of *Salmonella typhimurium* with intestinal mucosa in vivo and in vitro: relationship to virulence. 1989. *J Med Microbiol*; 29: 283-94.
15. **Carter PB, Collins FM.** The route of enteric infection in normal mice. *J Exp Med* 1974; 139: 1189-203.
16. **Jones BD, Ghori N, Falkow S.** *Salmonella* Typhimurium initiates murine infection by penetrating and destroying the M cells of the Peyer patches. *J Exp Med* 1994; 180: 15-23.
17. **Hueck CJ.** Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1998; 62: 379-433.
18. **Galán JE, Zhou D.** Striking a balance: modulation of the actin cytoskeleton by *Salmonella*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001; 97: 8754-761.
19. **Bliska JB, Galán JE, Falkow S.** Signal transduction in the mammalian cell during bacterial attachment and entry. *Cell* 1993; 73: 903-20.
20. **Groisman EA, Blanc – Potard AB, Uchiya K.** Pathogenicity islands and the evolution of *Salmonella* virulence. In: Kaper JB, Hacker J, editors. *Pathogenicity island and other mobile virulence elements*. Washington: American Society for Microbiology; 1999. p. 127-50.
21. **Ochman H, Soncini FC, Groisman EA.** Identification of a pathogenicity island required for *Salmonella* survival in host cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996; 93: 7800-804.
22. **Bajaj VR, Lucas L, Hwang C, Lee CA.** Coordinate regulation of *Salmonella typhimurium* invasion genes by environmental and regulatory factors is mediated by control of *hil A* expression. *Mol Microbiol* 1996; 22: 703-14.
23. **Ahmer BM, Van Reeuwijk J, Watson PR, Wallis TS, Heffron F.** *Salmonella* SirA is a global regulator of genes mediating enteropathogenesis. *Mol Microbiol.* 1999; 31: 971-82.
24. **Schechter LM, Lee CA.** Arac/Xyls family members, Hil C and Hil D, directly bind and derepress the *Salmonella* Typhimurium *hil A* promoter. *Mol Microbiol* 2001; 40: 1289-299.
25. **Groisman EA.** The pleiotropic two – component regulatory system Pho P – Pho Q. *J Bacteriol* 2001; 183: 1835-842.
26. **Cardona NM, Sánchez MM, Correa M.** Desarrollo de una prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR, utilizando la secuencia del gen *hilA* para diagnóstico de fiebre tifoidea. Resúmenes III encuentro nacional de investigadores en enfermedades infecciosas. Resumen D8. *Infectio* 2002; 6: 101.
27. **Darwin HK, Miller VL.** Inv F is required for expression of genes encoding proteins secreted by the SPI1 type III secretion apparatus in *Salmonella typhimurium*. *J Bacteriol.* 1999; 181: 4949-954.
28. **Van der Velden AWM, Lindgren SW, Worley MJ, Heffron F.** *Salmonella* Pathogenicity Island 1-Independent Induction of Apoptosis in Infected Macrophages by *Salmonella enterica* Serotype typhimurium. *Infect Immun* 2000; 68: 5702-709
29. **Goosney DL, Knoechel DG, Finlay BB.** Enteropathogenic *E. coli*, *Salmonella*, and *Shigella*: masters of host cell cytoskeletal exploitation. *Emerg Infect Dis.* 1999; 5: 216-20.
30. **Heithoff DM, Sinsheimer RL, Low DA, Mahan MJ.** An essential role for DNA adenine methylation in bacterial virulence. *Science.* 1999; 284: 967-70.