



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

Facultad de Ciencias Biológicas

Licenciatura en Biotecnología

“DETECCIÓN DE VIRUS EPSTEIN-BARR Y *Chlamydia trachomatis* POR PCR PUNTO FINAL EN MUESTRAS DE LÍQUIDO SINOVIAL DE PACIENTES CON ENFERMEDADES REUMÁTICAS”

Tesis para obtener el título de:

Licenciatura en Biotecnología

Presenta:

Melissa Nuñez Valdés

Directora de tesis:

Dra. María Lilia Cedillo Ramírez

Co-director de tesis:

M. C. José Sergio TecpanecatI Xihuitl



Heroica Puebla de Zaragoza, Puebla, Marzo 2020

Agradecimientos

Primeramente agradezco a Dios por permitirme realizar con éxito este proyecto, por llenarme de paciencia y conocimiento. También le agradezco por bendecirme con buenas personas que rodean mi vida, principalmente con una familia que ha creído siempre en mí, que ha fomentado el deseo de superación y de triunfo en la vida, lo que indudablemente contribuyó con este logro.

Especialmente doy gracias a mis padres y hermano por motivarme y apoyarme incondicionalmente en todo el transcurso de mi formación académica. Cada esfuerzo y sacrificio de ellos por brindarle lo mejor a mi persona se ven reflejados en mis logros, gracias de todo corazón por creer en mí.

A la doctora María Lilia Cedillo Ramírez, a la maestra Elda Carreón Moreno y al maestro Sergio Tecpanecatl Xihuitl, les agradezco la oportunidad de poder trabajar en el Centro de Detección Biomolecular, asimismo valoro el tiempo que se tomaban para enseñarme todas y cada una de las actividades que se llevaban a cabo dentro del laboratorio, agradezco los consejos, la confianza y los buenos momentos que viví con mi equipo de trabajo.

Al Dr. Felipe Roy Medina y a su colega el Dr. Raúl Israel Morales Silva les agradezco su atención y su apoyo en cuanto a la aportación de algunas muestras de líquido sinovial.

La M.C. Saira, el M.C. Antonio y el M.C. David fueron unas de las personas de las que más aprendí durante mi estancia en el CDB, les doy gracias por su paciencia y por compartir su conocimiento conmigo. A David le agradezco además que haya compartido conmigo sus muestras para poder llevar a cabo esta tesis.

Al resto del equipo de trabajo del laboratorio les agradezco el compañerismo y la amistad tan hermosa que pudimos forjar, entre ellos cabe destacar a Diana, Dulce, Jovanny, Sury, Javier, José Luis, Montse, Valeria y Fabrizio.

Me encuentro agradecida también con mis rommies Salma, Sandra, Liss, Yess, Ami, Dani, Montse y Leslie, porque sin ellas definitivamente hubiese sido más sola y difícil mi estancia en un estado completamente nuevo y desconocido para mí.

De igual manera doy gracias a Sofi y Fer, fueron piezas clave en mi desarrollo académico pues fueron siempre un apoyo para mí, ya que cuando no entendía algo, ellas se tomaban la molestia de explicarme y ayudarme, y jamás olvidaré esos buenos momentos de risas y carcajadas.

Agradezco infinitamente a mi novio José Manuel y a su familia por ser las maravillosas personas que han sido conmigo, por su bondad y cariño, por hacerme sentir siempre en confianza, por recibirme con los brazos abiertos, por cuidarme, por su apoyo, por todos los maravillosos momentos que me hicieron sentir como en casa.

Dedico esta tesis a:

Dios, a mis padres Ismael Nuñez Mateos y
María de los Ángeles Valdés Barroso, y
a mi hermano José Miguel Nuñez Valdés.

Índice

Resumen.....	6
1. Introducción.....	7
1.2 Artritis reumatoide.....	7
1.2.1 Respuesta inmune en la artritis reumatoide.....	8
1.3 Artritis infecciosa.....	10
1.3.1 Artritis vírica.....	11
1.3.2 Síndrome de Reiter (Artritis reactiva).....	12
1.4 Virus del herpes.....	14
1.5 Virus del herpes tipo 4 (Virus Epstein Barr).....	15
1.5.1 Descubrimiento del VEB.....	15
1.5.2 Epidemiología de VEB.....	16
1.5.3 Características virales de VEB.....	16
1.5.4 Mecanismo de invasión al huésped e infección latente.....	17
1.5.5 Mecanismo inmunológico de la infección latente.....	18
1.6 Artritis y virus de Epstein-Barr.....	20
1.7 <i>Chlamydia</i>	22
1.7.1 Características básicas de <i>Chlamydia</i>	22
1.7.2 Mecanismo de invasión de <i>Chlamydia</i>	23
1.8 <i>Chlamydia trachomatis</i>	24
1.8.1 Epidemiología de <i>C. trachomatis</i>	24
1.8.2 Características particulares de <i>C. trachomatis</i>	25
1.9 Artritis reactiva y <i>Chlamydia trachomatis</i>	26
1.9.1 Diagnóstico de <i>C. trachomatis</i>	27
2. Justificación.....	29
3. Hipótesis.....	29
4. Objetivos.....	29
5. Criterios de inclusión (grupo de estudio).....	30
6. Criterios de inclusión (grupo control negativo).....	30
7. Criterios de exclusión.....	30
8. Universo de estudio.....	30

9. Esquema de trabajo	31
10. Metodología.....	32
10.1 Muestras	32
10.2 Extracción de ácidos nucleicos	32
10.3 Viabilidad de las muestras	32
10.4 Amplificación de ácidos nucleicos para detección de VEB y <i>C. trachomatis</i>	33
10.5 Secuenciación.....	34
10.5.1 Extracción y purificación de banda en gel.....	34
11. Resultados	36
12. Discusión.....	43
13. Conclusión.....	46
14. Perspectivas.....	46
15. Bibliografía	48
16. Anexos	55
16.1 Kits y reactivos utilizados	55
16.1.1 High Pure PCR Template	55
16.1.2 Agarose Gel DNA Extraction Kit	56
16.2 Secuencias y alineamientos de primers.....	57
16.2.1 <i>GAPDH</i>	57
16.2.2 <i>Human gammaherpesvirus 4, complete genome</i>	57
16.2.3 <i>Plásmido críptico Chlamydia trachomatis</i>	57
17. Glosario.....	59
18. Abreviaturas	63

Resumen

La enfermedad reumática se describe como todo aquel tipo de padecimiento que puede provocar dolor, rigidez e hinchazón en las articulaciones o incluso en otras estructuras de soporte del cuerpo, como lo son los tendones, músculos, ligamentos y huesos. Algunas involucran al tejido conectivo mientras que otras son originadas debido a desórdenes autoinmunológicos del cuerpo.

Las enfermedades reumáticas pueden clasificarse según su origen o causa. Entre las más estudiadas se encuentran la artritis reumatoide, osteoartritis, espondiloartritis y la artritis psoriásica, a pesar de que existen más de 100 tipos de artritis la más común ha sido la artritis reumatoide, que de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) se dice que es una de las mayores causas de ausentismo y retiro laboral prematuro en el mundo; según los cálculos de la OMS esta enfermedad afecta entre el 1 y el 1.5% de la población mundial. Además, la Asociación Mexicana de Familiares y Pacientes con Artritis Reumatoide (AMEPAR) asegura que es una enfermedad que predomina en el sexo femenino ya que 3 de cada 4 personas son mujeres.

La etiología de la artritis se desconoce a ciencia cierta, sin embargo, se cree que es una enfermedad multifactorial en la cual se involucra nuestro propio sistema inmune, la predisposición genética y factores ambientales, tales como el tabaquismo, e inclusive enfermedades virales o bacterianas.

Se ha demostrado que entre los agentes causales víricos de la artritis se encuentra el virus de Epstein-Barr, con el cual se cree que existe una estrecha relación entre éste y dicho padecimiento. De igual manera se han encontrado reportes que asocian a los patógenos bacterianos *Chlamydia pneumoniae* y *Chlamydia trachomatis* con enfermedades reumáticas como lo es la artritis reactiva.

Por lo anterior el objetivo principal de este trabajo fue conocer la frecuencia de estos patógenos mediante la detección en muestras de líquido sinovial y de sangre provenientes de pacientes que presentaban algún tipo de enfermedad reumática para así confirmar su asociación. Este estudio fue realizado en el Centro de Detección Biomolecular (CDB) de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) donde participaron 62 pacientes de los cuales 16 (35%) de las 46 muestras de líquido sinovial y 3 (19%) de las 16 muestras de sangre de pacientes enfermos fueron positivas a VEB, mientras que para *C. trachomatis* ninguna muestra arrojó un resultado positivo.

1. Introducción

Las enfermedades reumáticas son conocidas en el área de la medicina como una enfermedad del tejido conectivo, debido a que afectan al tejido o estructura que soporta el cuerpo, así como a órganos internos tales como los ojos, corazón, cerebro, vasos sanguíneos, cerebro, etc. Algunas de ellas son causadas por las enfermedades autoinmunes, donde el sistema inmune que está estructurado para defender al organismo de agentes externos se altera y daña los tejidos propios, como es el caso de la artritis reumatoide (AR). “Las artritis” se caracterizan por la inflamación de las articulaciones y pueden tener diferentes causas, por ello, existen muchos tipos de artritis, como la artritis psoriásica, las artritis infecciosas, la gota, la AR, etc. [1].

1.2 Artritis reumatoide

La AR es una enfermedad inflamatoria, crónica, degenerativa, de carácter sistémico que afecta principalmente las membranas sinoviales de las articulaciones diartrodiales lo que ocasiona dolor e inflamación y puede conducir a una discapacidad severa. La prevalencia es alrededor del 1,0% en la población general, y es más frecuente en mujeres que en hombres en relación 2-3:1, dando un cambio importante en la calidad de vida de las personas. La incidencia en mujeres ocurre entre los 40 y los 60 años, debido a la menopausia, ya que una disminución aguda de la función ovárica o de la biodisponibilidad de estrógeno puede contribuir al inicio de la AR. [1, 47].

Un estudio realizado por Peláez-Ballestas en el 2011 en 5 regiones de México con una muestra de 19,213 individuos, encontró que alrededor del 14% de la población de estudio padecía de alguna enfermedad reumática. Dentro de éstas, la AR tuvo una prevalencia de 1.6% dentro de la población de estudio. Yucatán es el estado con más tendencia [10]. Este estado incluye varias comunidades rurales indígenas de la cultura maya-yucateca. Las comunidades indígenas mexicanas experimentan condiciones de vida socioeconómicas bajas y acceso limitado a servicios de salud adecuados. Como resultado, estas comunidades son más vulnerables a los efectos incapacitantes de la artritis [50].

Según datos proporcionados por el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), las Enfermedades Reumatoides afectan a aproximadamente 10 millones de personas en México, siendo la Artritis Reumatoide y la Osteoartritis las dos más comunes, afectando entre 1 y 8 millones de personas respectivamente [13].

La artritis es un proceso inflamatorio, en el cual las células del sistema inmunitario migran a las articulaciones, donde producen grandes cantidades de mediadores del sistema inmunitario (citocinas y quimiocinas), provocando la activación y el reclutamiento de más células al tejido diana como neutrófilos, células NK y linfocitos T. Ocurre entonces una hiperplasia de la membrana sinovial, así como una acumulación de fluido en la articulación, causando una hinchazón de la misma y una disminución de la movilidad. La inflamación puede variar en severidad entre pacientes, pero siempre presenta carácter crónico y progresivo, llevando a daño articular y erosión ósea. La presencia de autoanticuerpos en AR sugiere que los mecanismos de reconocimiento entre lo propio y lo extraño no funcionan correctamente, asimismo, parece que los mecanismos normales de control del organismo no son suficientes para controlar la AR [14].

Aunque las causas exactas de la enfermedad no están claras, se conocen algunos factores genéticos y ambientales asociados. La AR se caracteriza por la intervención de factores genéticos (antígenos leucocitarios humanos) [42,43], ambientales (infecciones, tabaquismo, contaminación del aire) [42, 44, 48, 49], étnicos, geográficos (diferentes alelos, incluso diferentes genes) [43] y nutricionales (consumo de cafeína, dieta rica en pescado, etc) [42], que interactúan y llevan al desarrollo de una reacción autoinmunitaria [1].

1.2.1 Respuesta inmune en la artritis reumatoide

El mecanismo más probable de inducción de la enfermedad implica la estimulación repetida del sistema inmune innato en las superficies mucosas, lo que puede conducir a la formación de autoanticuerpos años antes de que un evento desconocido desencadene el desarrollo de la enfermedad en la membrana sinovial [45].

Por ejemplo, fumar induce la expresión de peptidil arginina deiminasa en macrófagos alveolares, que convierten la arginina en citrulina. Estos péptidos citrulinados se presentan al sistema inmunitario dando como resultado anticuerpos proteicos anticitrulinados (ACPA) [45].

Después del desarrollo de los ACPA, los complejos inmunes solubles se forman en la circulación y llegan a la sinovial. Aquí se unen a mastocitos, neutrófilos y monocitos en la microvasculatura sinovial, lo que aumenta la permeabilidad vascular. A continuación, los ACPA se unen a los epítomos citrulinados en la membrana sinovial y el cartílago y pueden activar directamente los osteoclastos, lo que finalmente daña directamente a los condrocitos, el colágeno y los proteoglicanos. La inflamación sinovial progresa, y hay una mayor creación de neoepítomos con antígenos específicos de las articulaciones a partir de colágeno y proteoglicanos degradados [45].

Las células dendríticas cargadas con antígenos específicos de las articulaciones luego migran a los ganglios linfáticos, donde hay una activación del sistema inmune adquirido. La activación de las células T ocurre en los ganglios linfáticos, seguida de la propagación del epítomo a los antígenos nativos. Esto es seguido por la verdadera autoinmunidad; es decir, reacción de células B y células T a autoantígenos. Esta cascada de eventos resulta en la activación de redes de citoquinas, que finalmente resultan en sinovitis crónica y destructiva. Cabe señalar que las citocinas no se limitan a la membrana sinovial y escapan hacia la circulación causando problemas sistémicos, como fatiga y fiebre (debido a IL-6 y TNF) [45].

Existe un subgrupo de linfocitos T (LT) CD4+ denominados Th17, como se observa en la figura 1, promovidos por el factor de crecimiento transformante β (TGF- β) e IL-6, que secretan IL-17 y que coordinan la respuesta inmune de un modo diferente a las Th1 o a las Th2 [1].

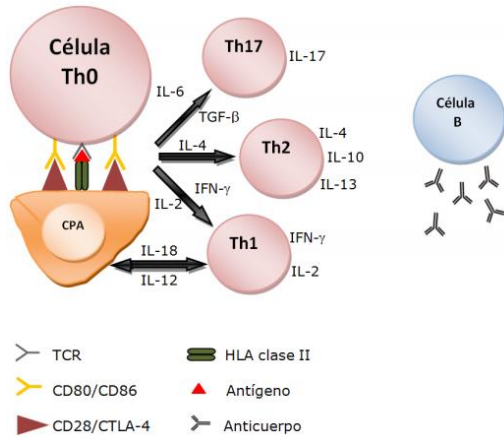


Figura 1. Activación de células T y B en AR^[1].

Las Th17 se asocian a procesos inflamatorios crónicos y autoinmunes promovidos fundamentalmente por el efecto pro-inflamatorio de la IL-17 y son las IL-23 las que inducen su proliferación. Se ha implicado a la IL-17 con el desarrollo de diversas enfermedades autoinmunes, entre ellas se destaca la AR, ya que se ha encontrado que la expresión de IL-17 está elevada en zonas afectadas. En AR, la IL-17,

además de potenciar la actividad de IL-1 y TNF- α (factor de necrosis tumoral α), estimula la diferenciación de los osteoclastos y promueve la destrucción de cartílago y hueso. El TNF- α también participa en la activación de neutrófilos, LT, estimula la producción de citocinas y coestimula la producción de anticuerpos por LB. Otra citocina pro-inflamatoria que fue descrita por el Dr. Kishimoto al final de los años ochenta en tejido sinovial reumatoide, es la interleucina 6 (IL-6). La IL-6 fue identificada como un factor producido por los LT y al igual que la IL-1 contribuye al desarrollo de osteoporosis y destrucción articular en AR mediante la proliferación de los fibroblastos sinoviales y de la diferenciación de los osteoclastos. Anteriormente se creía que los LB desempeñaban un papel colateral en la patogenia de AR. Sin embargo, es importante señalar que su participación implica diversos mecanismos incluyendo la producción de auto-anticuerpos, la activación de LT y la secreción de factores solubles pro-inflamatorios y efectores como son IL-6, IL-10, TNF- α , etc. ^[1].

1.3 Artritis infecciosa

La artritis se define como un proceso infeccioso e inflamatorio si está relacionado con un microorganismo infeccioso. Hay tres tipos de artritis infecciosa: artritis séptica, reactiva y postinfecciosa ^[12].

La artritis séptica se produce cuando el microorganismo infeccioso se encuentra en el espacio articular y se puede identificar en el aspirado del líquido sinovial. La

infección bacteriana de la articulación es la forma más frecuente y conocida de la artritis séptica. Sin embargo, también existen infecciones por virus, hongos y espiroquetas [12].

La artritis reactiva es la respuesta a un microorganismo infeccioso que se encuentra distante, generalmente, en el tracto gastrointestinal, genitourinario o respiratorio, por ejemplo, *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Campylobacter* y *Salmonella*. Por definición, estos microorganismos infecciosos no se aíslan del espacio sinovial de los pacientes, considerándose ésta una reacción inmunológica cruzada entre las estructuras articulares y el patógeno [12].

La artritis postinfecciosa es un tipo de artritis reactiva, donde los componentes no vivos del microorganismo infeccioso inicial están presentes en la articulación, produciendo una reacción inflamatoria secundaria a complejos inmunes [12].

La artritis séptica es la infección piógena de la cavidad articular [12]. Puede desarrollarse como resultado de la siembra hematógena, la introducción directa o la extensión de un foco contiguo de infección [26].

Las articulaciones afectadas por orden de frecuencia son rodillas, cadera, tobillos y codos, en el 90% de los casos. La artritis bacteriana es usualmente monoarticular en el 93.4% de los casos. En el 4.4% puede afectar a dos articulaciones, en el 1.75% a tres articulaciones y en el 0.5% a 4 articulaciones. La identificación del microorganismo en el líquido sinovial de pacientes con artritis séptica es, aproximadamente, del 79% y en sangre, de un 20% [12]. El líquido sinovial tiene una actividad bactericida significativa. En la artritis reumatoide y en el lupus eritematoso sistémico las funciones defensivas del líquido sinovial se encuentran alteradas y hay una disminución de la quimiotaxis y de la fagocitosis por los leucocitos polimorfonucleares lo que hace que este tipo de pacientes sean más susceptibles a la infección del espacio articular [51].

1.3.1 Artritis vírica

Las infecciones virales son una causa bien reconocida de artralgia aguda y artritis con un gran número de agentes causales reportados. El diagnóstico de artritis

inducida por virus puede ser difícil de confirmar, pero debe considerarse en todos los pacientes que presentan síntomas poliarticulares de inicio agudo [27]. En general, la artritis por infección viral es más frecuente en adultos que en niños, a pesar de que la mayoría de las infecciones víricas se producen en la infancia [12].

La artritis por el virus de Epstein-Barr (VEB) tiene una presentación poliarticular a lo largo de la infección y, aunque es más frecuente en adultos, también afecta a adolescentes. La presencia de leucopenia, trombocitopenia y, ocasionalmente, positividad de los anticuerpos antinucleares puede plantear confusión con el lupus eritematoso sistémico (LES). En la literatura se han publicado pocos casos de infección por citomegalovirus y en todos ellos se ha aislado el virus en el líquido sinovial. Lo mismo sucede con el herpes simple [12].

Debe considerarse una artritis viral cuando la artritis persiste más de 6 semanas. Dada la alta tasa de infecciones en la población general (como con el EBV), los anticuerpos IgG positivos solos no son diagnósticos. Del mismo modo, los anticuerpos IgM no siempre representan una infección reciente, ya que pueden persistir hasta por 2 años [28].

1.3.2 Síndrome de Reiter (Artritis reactiva)

En 1916, Reiter describió la tríada de artritis, uretritis no gonocócica y conjuntivitis. En 1969, Ahvonen introdujo el término artritis reactiva (ARe) en pacientes que presentaban una artritis aguda seguido de una infección en cualquier parte del cuerpo, pero sin que los gérmenes entraran en la articulación [11]. La American Rheumatism Association definió el síndrome de Reiter (SR) en 1981 como una artritis periférica de más de un mes de duración asociada a uretritis, cervicitis o diarrea [20]. Aunque la ARe se considera una artritis estéril, se han encontrado productos de degradación y ADN bacteriano en las membranas sinoviales de estos pacientes, por lo que es más adecuado al definir las ARe decir que los agentes infecciosos no pueden ser cultivados de muestras de líquido o membrana sinovial [11].

La artritis reactiva es un síndrome inmunomediado provocado por una infección reciente. La hipótesis es que cuando las bacterias invasoras, tales como podrían

ser *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Yersinia enterocolitica* o *Campylobacter jejuni*, alcanzan la circulación sistémica, los linfocitos T son inducidos por fragmentos bacterianos tales como lipopolisacáridos y ácidos nucleicos. Se sabe que la artritis reactiva se desencadena por una infección bacteriana, particularmente del aparato genitourinario o del tracto gastrointestinal (GI) [29]. Los agentes patógenos implicados en las ARe se caracterizan por ser bacterias gramnegativas con capacidad de invasión intracelular [11].

Actualmente existen dos teorías respecto al SR: la teoría epidémica donde la precede una enfermedad diarreica aguda secundaria a la infección por algunas de las bacterias anteriormente mencionadas. Y la teoría endémica que es posterior a una infección de transmisión sexual por gérmenes como: *Chlamydia trachomatis* o el *Ureaplasma urealyticum* [30]. La incidencia es de aproximadamente 2% a 4% después de una infección urogenital, principalmente con *Chlamydia trachomatis* y varía de 0% a 15% después de infecciones gastrointestinales con *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* o *Yersinia* [29].

Debido a que la ARe puede acompañarse de una variedad de síntomas extraarticulares, como uveítis, carditis, inflamación intestinal o síntomas mucocutáneos, el SR es en realidad una manifestación clínica de la artritis reactiva [11]. El síndrome de Reiter compromete preferencialmente el tendón de Aquiles, la fascia plantar, el tobillo y las articulaciones subtalares. El 20 % de los individuos con síndrome de Reiter con antígeno leucocitario humano (HLA) B27 positivo desarrollan sacroileítis unilateral o bilateral o un cuadro completo de espondilitis anquilosante [30, 39].

La persistencia bacteriana en el interior del organismo parece ser diferente según el tipo de bacteria implicada. En el caso de la infección por *Chlamydia*, la bacteria alcanza la articulación y permanece viva en su interior, mientras que, en la infección por *Yersinia* o *Salmonella*, la bacteria no es capaz de sobrevivir a nivel intraarticular o, si lo hace, es por un corto espacio de tiempo. En la infección por *Chlamydia* se ha demostrado la presencia de ADN y ARN bacteriano a nivel

articular, lo que indica que existen bacterias vivas y metabólicamente activas en el interior de la articulación, aunque en una forma no cultivable. Este ADN bacteriano actúa como un potente inductor de la inflamación articular por un proceso dependiente del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) [11, 23].

Se han implicado diferentes mecanismos para justificar la persistencia de la *Chlamydia* en la articulación. Se ha visto que existe una disminución en la síntesis de antígenos de membrana de la bacteria (MOMP) que explicaría su morfología aberrante encontrada en la articulación y la atenuación de su poder inmunogénico. Por otro lado, *Chlamydia* es capaz de disminuir la apoptosis de los monocitos afectados, interfiriendo en la liberación de citocromo C de la mitocondria de la célula, lo que atenúa la expresión de las moléculas presentadoras de antígeno de clase I y II (MHC-I y II) e induce la apoptosis de linfocitos T por TNF- α , facilitando la evasión de una respuesta inmune eficaz [11, 23].

1.4 Virus del herpes

La familia *Herpesviridae* comprende a varios virus estructuralmente similares que se encuentran tanto en el hombre como en los animales [2]. De los más de 100 virus herpes conocidos, 8 infectan rutinariamente solo a humanos: virus herpes simplex tipos 1 y 2, virus varicela-zoster, citomegalovirus, virus Epstein-Barr, virus herpes humano 6 (variantes A y B), virus herpes humano 7 y virus del sarcoma de Kaposi o virus del herpes humano 8. Todos los virus del herpes pueden establecer una infección latente dentro de tejidos específicos, que son característicos de cada virus [31]. Estos virus son ubicuos y figuran entre los agentes infecciosos adquiridos con mayor frecuencia [2]. La familia de los virus herpéticos es muy numerosa. Incluye virus “benignos” y “malignos”, virus de acción inmediata y de lenta participación en la patología humana [3].

Todos los virus herpes son clasificados como tales por presentar dos cualidades: su ultraestructura y la capacidad para producir infecciones intracelulares latentes, que pueden reactivarse periódicamente. Según sus propiedades biológicas se subdividen en tres subfamilias [2]:

- *Alfaherpesvirinae*, que incluye los virus herpes simplex 1 (HSV-1), herpes simplex 2 (HSV-2) y varicela-zoster (VZV). Estos virus lisan las células infectadas, crecen de forma rápida en cultivos celulares y establecen infecciones latentes en ganglios neurales sensoriales o sensitivos.
- *Betaherpesvirinae*, que comprende el citomegalovirus (CMV), el virus herpes humano 6 (HHV-6) y el virus herpes humano 7 (HHV-7). El crecimiento de estos virus es lento en cultivos celulares. Infectan tejidos linfoides, las glándulas salivales y los riñones.
- *Gammaherpesvirinae*, que comprende el virus Epstein-Barr (EBV), el cual replica en células linfoides y puede producir infecciones líticas en células epiteliales; la latencia se establece en células linfoides. Dentro de este grupo se ubica también al virus herpes humano 8 (HHV-8).

Cada especie es agente causal de ciertas enfermedades en particular como se describe en la tabla 1.

Subfamilias	Especie	Agente causal de:
<i>Alfaherpesvirinae</i>	Virus herpes simplex tipo 1 (HSV-1)	Herpes simplex, gingivostomatitis, faringitis, amigdalitis y queratoconjuntivitis.
	Virus herpes simplex tipo 2 (HSV-2)	Herpes genital.
	Virus varicela-zoster (VZV)	Varicela y herpes zoster. (Herpesvirus tipo 3).
<i>Betaherpesvirinae</i>	Citomegalovirus (CMV)	Enfermedad citomegálica, síndrome mononucleósico. (Herpesvirus tipo 5).
	Virus herpes humano 6 (HHV-6)	Exantema súbito.
	Virus herpes humano 7 (HHV-7)	
<i>Gammaherpesvirinae</i>	Virus Epstein-Barr (EBV)	Mononucleosis infecciosa, linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo. (Herpesvirus tipo 4).
	Virus herpes humano 8 (HHV-8)	Sarcoma de Kaposi.

Tabla 1. Clasificación de los virus herpes humano [2,3].

1.5 Virus del herpes tipo 4 (Virus Epstein Barr)

1.5.1 Descubrimiento del VEB

Burkitt, un cirujano inglés que trabajaba en África, describió la existencia de linfomas en niños con compromiso mandibular [2]. El virus Epstein Barr (VEB) fue descubierto por microscopía electrónica en células cultivadas de tejido con linfoma de Burkitt, por Epstein, Achongy Barr. El DNA del VEB fue detectado en tejidos de

pacientes con carcinoma nasofaríngeo en 1970^[5]. Este virus tenía todas las características principales de los miembros de la familia *Herpesviridae*. Este agente infeccioso fue cultivado en linfocitos B humanos, a los cuales sistemáticamente inmortaliza y transforma in vitro ^[2]. En 1980 se observó que el VEB estaba asociado con el linfoma no Hodgkin y la leucoplasia vellosa oral en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida. El VEB tiene una alta prevalencia, infectando el 90% de la población, con tendencia a la cronicidad, frecuentemente con un curso asintomático. El VEB está muy relacionado con los virus presentes en los primates del viejo mundo, incluyendo chimpancés y el mono *Rhesus* ^[5].

1.5.2 Epidemiología de VEB

Tiene distribución cosmopolita, pero la mayoría de las infecciones primarias cursan en forma subclínica. Se transmite por contacto con secreciones de la orofaringe y se considera que pudiera transmitirse por actividad sexual, ya que los Epstein-Barr virus se han aislado de secreciones cervicales y vaginales ^[3]. La incidencia de infecciones ocasionadas por el virus de Epstein-Barr, tal como la mononucleosis infecciosa, en población mexicana se desconoce, sin embargo es necesario considerar el diagnóstico sintomático y la sistematización en el registro de la enfermedad ^[46].

La respuesta del huésped ante una infección por este virus depende de la integridad de su estado inmunológico; por lo que una respuesta inefectiva ocurre en personas con inmunodeficiencia congénita o adquirida, permitiendo una gran proliferación de las células B infectadas. En contraste el predominio de la infección en adolescentes y adultos y la capacidad de experimentar una infección sintomática sugieren que la respuesta exagerada del huésped contra el VEB conduce al desarrollo de enfermedad ^[5].

1.5.3 Características virales de VEB

Desde el punto de vista de la ultraestructura, tienen una envoltura lipoproteica originada por su interacción con las membranas celulares ^[2]. Es un virus icosaédrico, con ADN bicatenario, cápside de 162 capsómeros y envoltura amorfa

con glicoproteínas salientes a manera de púas ^[3]. Lo particular de estos virus es que entre la envoltura y la cápside presentan una zona fibrilar, amorfa, denominada tegumento que no se observa en otras familias virales ^[2]. Puede pasar por una etapa de latencia que se caracteriza por la persistencia del virus, provocando una restricción de la expresión viral con alteración del crecimiento celular y proliferación, con retención del potencial para la reactivación y reproducción del ciclo lítico. De esta manera se logra persistencia intracelular del genoma viral completo ^[3].

1.5.4 Mecanismo de invasión al huésped e infección latente

La infección inicia con la invasión viral en la faringe. El virus se replica en las células epiteliales y en linfocitos, y produce lisis celular. A continuación infecta linfocitos B, los cuales generalmente no destruye, pero en los que sí establece la infección latente ^[3]. Es decir, se acepta que, luego de un período de incubación prolongado (30-50 días), el virus replica en el epitelio faringoamigdalino y luego infecta a linfocitos B ubicados en las estructuras linfoides denominadas “anillo de Waldeyer” ^[2].

Para que el virus logre entrar a la célula B (linfocito B), su glicoproteína principal de envoltura gp350 se une al receptor viral, la molécula CD21 que se encuentra en la superficie de la célula B, la cual posee un papel patofisiológico permitiendo la entrada del virus a los linfocitos B, a las células dendríticas foliculares y a ciertas células epiteliales (como las de la cervix del útero) ^[5, 40].

Una vez dentro de la célula huésped la transcripción, la replicación del genoma y el ensamblaje de la cápside se producen en el núcleo de dicha célula. Los genes se replican en un orden específico: (1) genes inmediatos tempranos, que codifican proteínas reguladoras; (2) genes tempranos, que codifican enzimas para replicar ADN viral; y (3) genes tardíos, que codifican proteínas estructurales. El tegumento y la envoltura se adquieren a medida que el virión brota a través de la membrana nuclear o el retículo endoplásmico. Los viriones se transportan a la membrana celular a través del complejo de Golgi, y la célula huésped muere a medida que se liberan los viriones maduros (ver figura 2). Alternativamente, en tipos de células

seleccionadas, el virus puede mantenerse en un estado latente como fue mencionado anteriormente ^[31].

Cabe mencionar que cuando el virus penetra el núcleo del linfocito B, parte de su DNA se incorpora en forma lineal al DNA celular ^[4]. Después de la infección de las células B, el genoma lineal se torna circular, formando un episoma (ver figura 3), manteniéndose usualmente latente ^[5]. Después de la transformación la célula se divide y la progenie tiene varias genocopias del virus en forma latente. Además de contener los antígenos virales, los linfocitos B transformados producen y secretan inmunoglobulinas, sobre todo de clase IgM ^[4]. Estos linfocitos B infectados se diseminan en todo el sistema fagocítico mononuclear y la respuesta inmune celular específica del virus persiste en la sangre periférica por toda la vida ^[3].

Si la infección primaria ocurre durante los primeros años de vida, la infección es a menudo subclínica. Si la infección primaria se presenta en la segunda década de la vida (15-24 años), se desarrolla un cuadro agudo con fiebre, daño en la garganta, crecimientos ganglionares, ataque al estado general, dolor de cabeza, esplenomegalia y la presencia sanguínea de linfocitos atípicos ^[3].

1.5.5 Mecanismo inmunológico de la infección latente

Los linfocitos B de memoria pueden ser el sitio de persistencia del VEB, en adultos normales de 1 a 50 linfocitos B por millón en la circulación son infectadas por el VEB, y el número de células infectadas latentes permanece estable por varios años. De los casi 100 genes virales expresados durante la replicación, sólo 10 se expresan en las infecciones latentes de las células B *in vitro*, expresando dos tipos de RNA no mensajero, seis proteínas nucleares, y dos proteínas de membrana. El antígeno nuclear de la proteína del VEB (EBNA-1), es una proteína que se une al DNA viral y permite que el genoma del VEB se mantenga como episoma en la célula B. El EBNA-2 regula la expresión de las proteínas de latencia de membrana LMP-1 y LMP-2, así como las proteínas celulares que contribuyen al crecimiento y transformación de los linfocitos B ^[5].

El RNA no mensajero del VEB (EBER) no codifica proteínas, pero son parte importante de la oncogénesis y resistencia a la apoptosis. El RNA BARF0, ha sido

detectado en las células B (CB) infectadas de forma latente [5]. Mientras que los anticuerpos (IgG) contra EBNA-1 también podrían ser detectados ya que tardan varios meses en desarrollarse, pero también persisten de por vida [17]. Las enfermedades asociadas al VEB generalmente muestran una expresión viral genética limitada a 1 de 3 patrones: 1) EBNA-1 y EBER, 2) EBNA-1, LMP-1, LMP-2 y EBER, 3) todos los genes de latencia son expresados. Se observa un cuarto patrón de latencia en las CB obtenidas de sangre periférica proveniente de personas sanas infectadas con VEB en el pasado, en donde sólo EBER y LMP-2 y en algunos estudios EBNA-1 habían sido detectados [5].

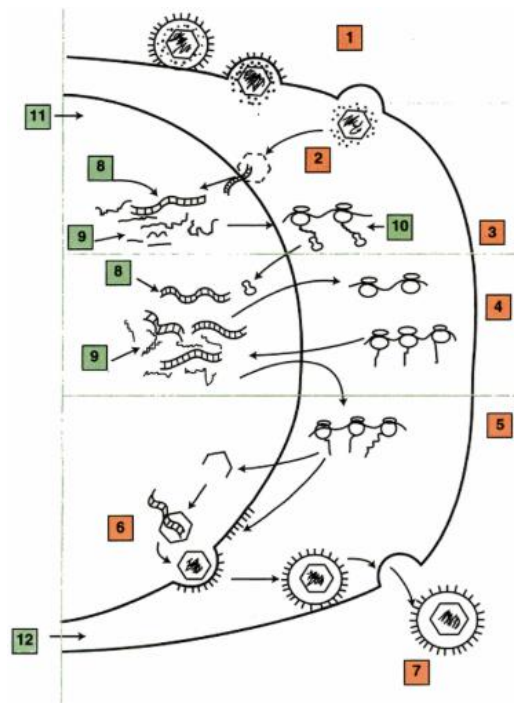


Figura 2. Esquema de las principales etapas de la replicación de los virus herpes. 1. Adsorción y penetración. 2. Descapsidación. 3. Síntesis inmediata temprana de proteínas alfa. 4. Síntesis temprana de proteínas beta y replicación del DNA viral. 5. Síntesis tardía de proteínas gamma (proteínas estructurales). 6. Ensamblaje y maduración. 7. Liberación y excitosis. 8. DNA viral. 9. RNAm. 10. Proteínas. 11. Núcleo celular. 12. Citoplasma celular [2].

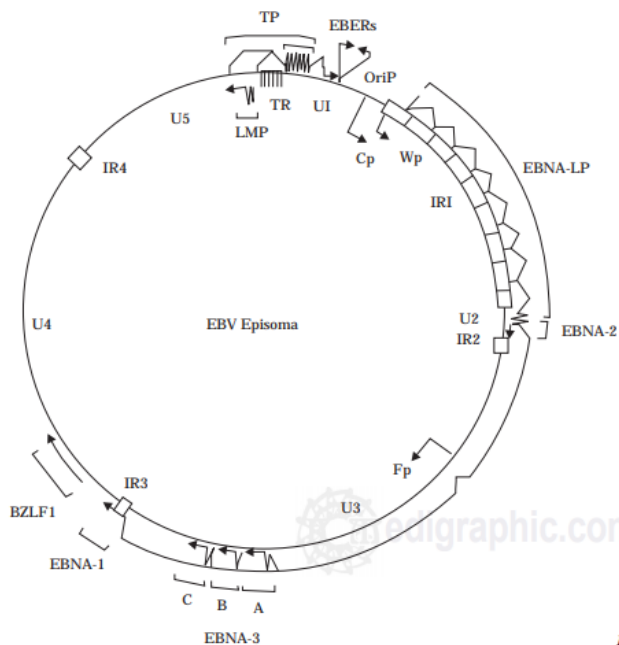


Figura 3. Genoma del virus de Epstein Barr [5].

1.6 Artritis y virus de Epstein-Barr

Aunque la patogenia de la AR aún no se ha aclarado en detalle, parece ser una enfermedad multifactorial que involucra factores genéticos y ambientales. Entre los factores genéticos, se ha demostrado que los alelos de antígeno leucocitario humano DRB1 (HLA-DRB1) influyen en la susceptibilidad y la gravedad de la AR. Los alelos HLA-DRB1 que contienen los motivos de QKRAA, QRRAA y RRRAA en las posiciones 70–74 de la tercera región hipervariable están fuertemente asociados con la AR, y estos alelos se han denominado epítopes compartidos (SE). El tabaquismo es un factor de riesgo ambiental para el desarrollo de la AR [6]; ya que se ha observado que el tabaco afecta la respuesta inmune tanto celular como humoral y podría tener tanto efectos pro-inflamatorios como inmunosupresores a través de mecanismos diversos [42], por otro lado como fue mencionado anteriormente, fumar induce la expresión de peptidil arginina deiminasa en macrófagos alveolares, que convierten la arginina en citrulina. Estos péptidos citrulinados se presentan al sistema inmunitario dando como resultado ACPA [45]. Un meta-análisis mostró que la incidencia de la AR era un 26% mayor en los fumadores que en los no fumadores. También se sospecha que los agentes

microbianos, particularmente las infecciones periodontales, son un desencadenante ambiental para la AR. Se ha demostrado ampliamente una relación entre el virus de Epstein-Barr (VEB) y la AR [6].

La primera indicación de una relación entre el EBV y la AR se informó en 1978, lo que demuestra que los anticuerpos contra el antígeno nuclear del EBV (EBNA) difieren entre los pacientes con AR y los controles normales. *Tosato et al.* descubrieron que la función de las células T supresoras específicas de EBV estaba defectuosa en pacientes con AR^[16], lo que sugiere que la persistencia del VEB con una deficiencia reguladora específica de células T puede contribuir a varias anomalías inmunitarias en la AR. La carga de ADN del VEB en linfocitos de sangre periférica aumentó en la AR en comparación con los controles sanos. Varios estudios han demostrado que la proteína de membrana latente-1 (LMP1), así como los ARN pequeños codificados por el virus de Epstein-Barr (Epstein-Barr virus-encoded small RNAs, EBER) y EBNA-2 podrían detectarse en el tejido sinovial en pacientes con AR [6].

Algunos investigadores encontraron que EBNA2 y sus factores de transcripción relacionados activan algunos de los genes humanos asociados con el riesgo de lupus y otras enfermedades autoinmunes, como la esclerosis múltiple, la artritis reumatoide, la enfermedad inflamatoria intestinal, la diabetes tipo 1, la artritis idiopática juvenil y la enfermedad celíaca [15].

A través de una nueva técnica computacional y bioquímica desarrollada por un equipo, que se conoce como el algoritmo de Intersección del Locus del Elemento Regulador (RELI), los investigadores están filtrando y comparando una gran colección de datos genéticos y de proteínas de individuos sanos y personas con enfermedades autoinmunes. El algoritmo RELI, identificó una serie de regiones reguladoras de unión de EBNA2 en los genes relacionados con desarrollar lupus así también encontró los factores de transcripción. Por lo anterior se sabe esta unión podría estar asociada en el desarrollo de artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, esclerosis múltiple, diabetes tipo 1, enfermedad celíaca y artritis idiopática juvenil [15].

1.7 Chlamydia

El grupo mejor estudiado en el phylum *Chlamydiae* es la familia *Chlamydiaceae*, que comprende 11 especies que son patógenas para los humanos o animales [8]. La Chlamydia es una bacteria Gram negativa, no móvil, de vida parasitaria intracelular obligada porque carece de habilidad para sintetizar ATP, son parásitos energéticos, no tienen vida libre y colonizan el citoplasma de las células susceptibles [7]. Algunas especies que son patógenas para los animales, como el patógeno aviar *Chlamydia psittaci*, pueden transmitirse a los humanos. El patógeno para ratón es *Chlamydia muridarum*, sin embargo también se ha encontrado relacionada con infecciones del tracto genital. *Chlamydia trachomatis* y *Chlamydia pneumoniae*, son las principales especies que infectan a los humanos, responsables de una amplia gama de enfermedades, como lo son la enfermedad inflamatoria pélvica, tracoma, linfogranuloma venéreo (LGV), neumonía, bronquitis, faringitis, entre otras [8].

1.7.1 Características básicas de Chlamydia

Una característica de esta bacteria es que carece en su pared del ácido n-acetilmurámico. Se dividen por fisión binaria y contienen ribosomas similares a las bacterias gram negativas. La membrana Chlamydial propuesta por microscopia electrónica muestra dos membranas celulares trilaminares caracterizadas por la ausencia de peptidoglicanos. La membrana presenta proteínas extracelulares ricas en cisteína, las cuales están unidas en forma cruzada mediante puentes disulfuro en los cuerpos elementales (CE) para proveer una integridad estructural de resistencia frente a situaciones de estrés mecánico y osmótico [7].

Las proteínas de la envoltura Chlamydial ricas en cisteína incluyen:

1. MOMP (Proteína mayor de membrana externa), expresada en la envoltura del cuerpo elemental, pesa 40 kDa, constituye casi el 60% del total de las proteínas de la membrana externa y está codificada por el gen *omp 1*; muestra una función de porina, se glicosila post-traducción; actualmente, se ha visto que juega un rol en la adherencia electrostática y contiene epitopes antigénicos de superficie.

2. Proteína de 60 kDa: esta proteína está codificada por el gen *omp2*. Se encuentra en el espacio periplásmico, dando a las Chlamidias una integridad semejante a la dada por el peptidoglicano. Los cuerpos reticulados (CR) no contienen la proteína de 60 Kda.
3. Proteína de 12-15 kDa: codificada por el gen *omp 3*, es una lipoproteína hidrofílica. Los CR no contienen esta proteína [7].

El género *Chlamydia* tiene un genoma bacteriano pequeño comparado con micoplasma. El genoma cromosómico de *Chlamydia* tiene 1.042.519 pb, (58.7% de A-T).

1.7.2 Mecanismo de invasión de *Chlamydia*

Las Chlamydias tienen un ciclo reproductivo común. La partícula infectante estable en el ambiente es una célula pequeña llamada cuerpo elemental [7]. La unión de los cuerpos elementales a las células huésped se inicia mediante la formación de un puente trimolecular entre las adhesinas bacterianas, los receptores del huésped y los proteoglicanos del heparán sulfato del huésped (HSPG) [32]. Es decir, para adherirse a las células huésped se requiere un sulfato de heparina parecido a la glucosamina glucano sobre la superficie de la Chlamydia. Después de la adhesión, el cuerpo elemental se introduce por fagocitosis a la célula huésped dentro de una vacuola derivada de la membrana superficial. Este corpúsculo elemental se reorganiza en uno más grande llamado: cuerpo reticulado [7]. Los cuerpos elementales y los cuerpos reticulados son morfológica y funcionalmente distintos [32]. Dentro de la vacuola rodeada por una membrana, el cuerpo reticulado aumenta de tamaño y se divide varias veces por fisión binaria. Con el tiempo toda la vacuola se encuentra llena de cuerpos elementales derivados por la fisión binaria de los cuerpos reticulados para formar una inclusión en el citoplasma de la célula huésped como se observa en la figura 4. Los cuerpos elementales recién formados pueden liberarse de la célula huésped para infectar nuevas células. El ciclo de reproducción dura de 24 a 48 horas [7].

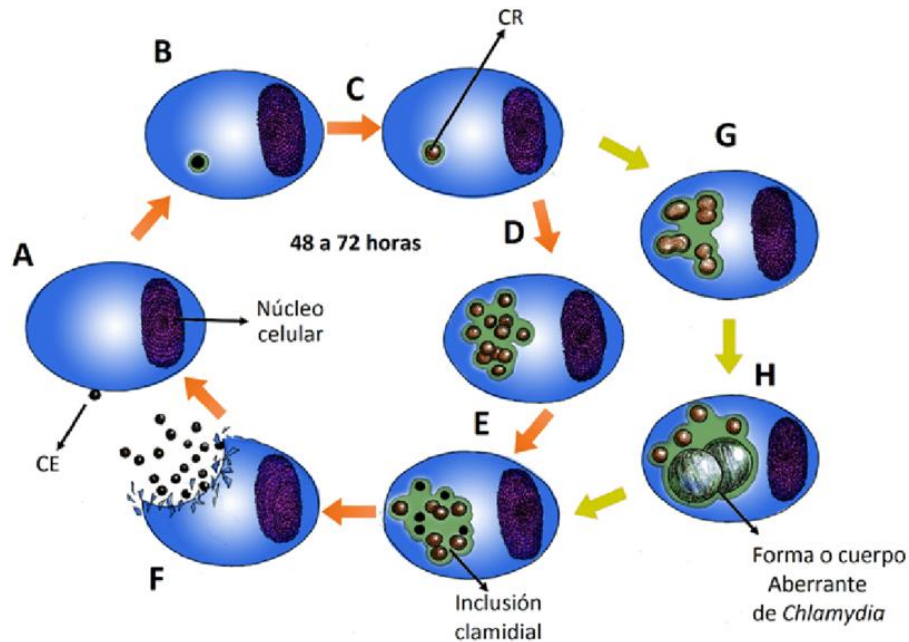


Figura 4. Mecanismo de invasión de *Chlamydia*. El cuerpo elemental se introduce por fagocitosis a la célula huésped dentro de una vacuola [7, 41]. CE: Cuerpo elemental, CR: Cuerpo reticulado.

1.8 *Chlamydia trachomatis*

C. trachomatis es una de las especies pertenecientes al género *Chlamydia* anteriormente descrito. La presencia de *Chlamydia trachomatis* en el tracto genital se describió por primera vez de forma indirecta cuando se observó una oftalmía no gonocócica o amicrobiana en los recién nacidos. En 1910, Heymann notó la presencia de inclusiones en muestras del cuello uterino de la madre y la uretra del padre de un bebé con blenorrea de inclusión. Incluso es posible que la identificación de la clamidia en el tracto genital se haya descrito anteriormente como la causa de una uretritis amicrobiana. Utilizando la técnica del saco vitelino, Jones et al. [19] fueron los primeros en recuperar *C. trachomatis* del cuello uterino de una madre con enfermedad inflamatoria pélvica (EIP). En la década de 1970, la introducción de técnicas de cultivo de tejidos mejoró en gran medida la capacidad de aislar la clamidia de los tractos genitales de hombres y mujeres y los ojos de los recién nacidos [9].

1.8.1 Epidemiología de *C. trachomatis*

Chlamydia trachomatis es el patógeno bacteriano de transmisión sexual más prevalente en EE.UU. En 2018 se declaró en el CDC (Centers of Disease Control

and Prevention) que el 97.4% de todos los casos de clamidia reportados en mujeres se encontraban entre las personas de 15 a 44 años. Las tasas más altas específicas por edad de casos reportados de clamidia en 2018 fueron entre las personas de 15 a 19 años (3,306.8 casos por cada 100,000 mujeres) y 20 a 24 años (4,064.6 casos por cada 100,000 mujeres) [21]. En México, su prevalencia no se conoce por completo, debido a que no todos los estados de la República Mexicana llevan a cabo este estudio. En Ciudad de México se informa una prevalencia de infección genital de 1,5 al 28,9% en diferentes poblaciones femeninas, mientras que, por serología, la prevalencia es mucho mayor, llegando hasta 38,3% en mujeres infértiles con oclusión tubárica, 35,4% en pacientes infértiles sin oclusión tubárica y 22,6% en mujeres embarazadas [22]. La mayoría de las infecciones (70 a 80%) en mujeres son asintomáticas; sin embargo, se estima que 5 de cada 1,000 desarrollarán infertilidad por factor tubárico. Las secuelas a largo plazo de una infección por *C. trachomatis* en mujeres con enfermedad inflamatoria pélvica (EIP) incluyen dolor abdominal crónico, embarazo ectópico e infertilidad [9].

En los hombres, la complicación más grave es la epididimitis, pero no la infertilidad, y la artritis reactiva (síndrome de Reiter [uretritis, conjuntivitis y artritis]) también se ha asociado con la clamidia [9].

1.8.2 Características particulares de *C. trachomatis*

Como fue mencionado, *Chlamydia* tiene un genoma bacteriano pequeño, siendo importante recalcar que existen diferencias entre las especies, por ejemplo, *C. trachomatis* tiene un plásmido críptico de 7,493 pb que no posee la *C. pneumoniae*. Además, análisis del genoma Chlamydial ha mostrado que codifica para 875 proteínas aproximadamente, que no son necesariamente expresadas, 70 de las cuales son exclusivas de *C. trachomatis*. Todos los plásmidos de *C. trachomatis* aislados de humanos son extremadamente similares con menos de un 1% de variaciones en la secuencia de nucleótidos, todos tienen alrededor de 7.500 nucleótidos, con 8 marcos de lectura abiertos [7].

1.9 Artritis reactiva y *Chlamydia trachomatis*

Las bacterias gramnegativas comparten una serie de antígenos que se han implicado en los mecanismos patogénicos de la inflamación articular en las ARe, como los lipopolisacáridos (LPS) o las *heat shock protein* (HSP60). Los LPS forman parte de la membrana externa de estas bacterias y se han detectado en la articulación inflamada de enfermos con ARe. Este antígeno, una vez procesado a nivel intracelular, actúa estimulando los linfocitos y la producción de citosinas proinflamatorias. Las HSP60 se han detectado en células del líquido sinovial y además se han podido detectar en células mononucleares de sangre periférica, incluso varios años después del desarrollo de la ARe [23, 24].

En las ARe asociadas a clamidia, la puerta de entrada de la infección se produce a nivel urogenital. Las bacterias implicadas, por su capacidad de sobrevivir en el interior de las células, son capaces de evitar los mecanismos de defensa del huésped y diseminarse en el organismo hasta alcanzar la articulación, adaptándose a este medio [23].

Como se observó anteriormente en la figura 2, todas las especies de clamidia tienen un ciclo de desarrollo bifásico. En la primera fase el cuerpo elemental (forma infecciosa extracelular del microorganismo) se une a la célula (generalmente células epiteliales) a los receptores de proteínas de baja densidad. Se convierte en una inclusión citoplasmática, dentro del cual el cuerpo reticular se transforma en la forma metabólicamente activa, sufre una serie de divisiones celulares y se reorganiza a la forma de cuerpo elemental que se libera por lisis para propagar de nuevo la infección [25]. Existe, sin embargo, una serie de mecanismos implicados en la «persistencia» de la clamidia en la articulación. Se inducen un bloqueo del ciclo de desarrollo de la clamidia, la interrupción de la producción y liberación de cuerpos elementales, y una disminución en la actividad metabólica que le hacen refractarias al tratamiento antibiótico. Se produce una replicación de clamidia en ausencia de división celular, una disminución de la expresión de las proteínas de membrana (omp1) que conducen a una morfología aberrante intracelular de la clamidia y una disminución del poder inmunogénico [23].

1.9.1 Diagnóstico de *C. trachomatis*

1.9.1.1 Pruebas serológicas

Debido a sus características inmunológicas existe una reacción cruzada con *C. pneumoniae*, una bacteria sumamente frecuente en la población. Tiene además una sensibilidad limitada, ya que existe un predominio de respuesta celular sobre la humoral porque la clamidia es un patógeno predominantemente intracelular. Los anticuerpos IgG permanecen elevados durante meses y se deben combinar con anticuerpos IgM y/o IgA, lo que indicaría una infección persistente (Figura 5) [23].

1.9.1.2 Reacción en cadena de polimerasa

Pocas técnicas han revolucionado la ciencia y la investigación biomédica como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La PCR permite la amplificación de regiones específicas de ADN más de mil millones de veces y permite la manipulación de ADN para técnicas como la clonación de genes. El campo de la biología molecular moderna debe la mayor parte de su éxito a la PCR, y las grandes empresas, como el Proyecto del Genoma Humano, fueron posibles como resultado de esta técnica. Además, la PCR ha cambiado la apariencia de la medicina y ahora se usa de manera rutinaria como una herramienta de diagnóstico en la identificación de enfermedades e infecciones microbianas [52].

La capacidad de la PCR para amplificar y detectar pequeñas cantidades de material genético ha afectado enormemente el campo de las enfermedades infecciosas. Los médicos ahora pueden detectar rápidamente la presencia de microbios que son difíciles de cultivar o que requieren semanas para crecer. La PCR se usa comúnmente para identificar *Mycobacterium tuberculosis*, virus de inmunodeficiencia humana, virus del herpes simple, sífilis y muchos otros patógenos [52].

La PCR se considera el «patrón de oro» para el diagnóstico de la ARe por clamidia. Es una técnica validada, sensible y específica para la detección de ADN de clamidia en muestras de orina, exudado uretral o cervical. La determinación en el líquido sinovial, los monocitos de sangre periférica y en la membrana sinovial

solo se realiza en centros especializados y está todavía sometida a variaciones técnicas pendientes de validación [23].

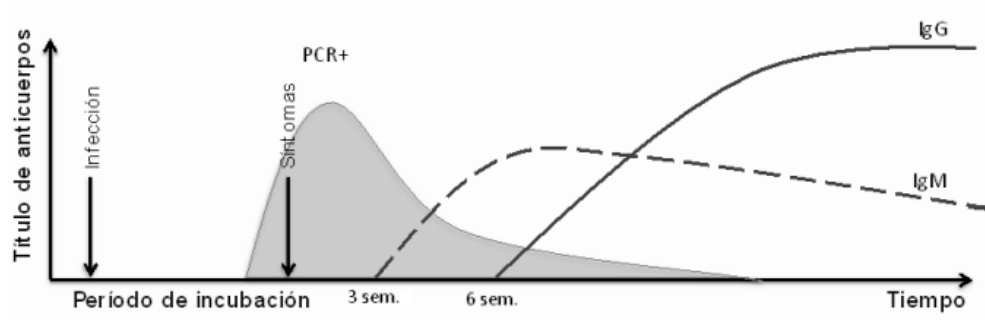


Figura 5. Dinámica de la aparición de títulos de anticuerpos y marcadores moleculares para ser detectado por serología o técnica de PCR [23].

2. Justificación

Las enfermedades reumáticas pueden tener una etiología multifactorial; aún se desconoce el principal factor que desencadena a estas enfermedades tal es el caso de artritis reumatoide, sin embargo, existen reportes y artículos que la relacionan con virus y bacterias como el virus de Epstein Barr y las bacterias de la familia *Chlamydiaceae*. Por lo que se pretende analizar las muestras de líquido sinovial provenientes de pacientes que presenten algún tipo de enfermedad reumática y así encontrar con qué frecuencia se detecta el virus de Epstein Barr y la bacteria *Chlamydia trachomatis* en dichas muestras para así confirmar la relación que existe entre éstos patógenos y las enfermedades reumáticas.

3. Hipótesis

La técnica de PCR punto final nos permitirá detectar la presencia del virus de Epstein Barr y de la bacteria *Chlamydia trachomatis* en las muestras de líquido sinovial y sangre de los pacientes con enfermedades articulares y se podrá confirmar la relación y/o asociación entre estas enfermedades y estos patógenos como unos de sus posibles agentes causales.

4. Objetivos

General:

- Detectar mediante PCR punto final *Chlamydia trachomatis* y virus de Epstein Barr en muestras de líquido sinovial y sangre periférica de pacientes reumáticos.

Específicos:

- Extraer el DNA de muestras de líquido sinovial y sangre.
- Determinar los oligonucleótidos específicos para Epstein Barr y *Chlamydia trachomatis* a utilizar.
- Estandarizar las condiciones de la PCR punto final para la amplificación de los fragmentos esperados.

- Detección y análisis de resultados.

5. Criterios de inclusión (grupo de estudio)

Pacientes con rango de edad de 18 – 80 años que presenten algún tipo de enfermedad reumática como artritis reumatoide, osteoartritis, artritis reactiva, osteoporosis, etc., de los cuales se tomará una muestra de líquido sinovial o sangre.

6. Criterios de inclusión (grupo control negativo)

Personas voluntarias que no presentan ningún tipo de padecimiento reumático y que no se encuentren en tratamiento antimicrobiano por lo menos 7 días antes de la toma de muestra.

7. Criterios de exclusión

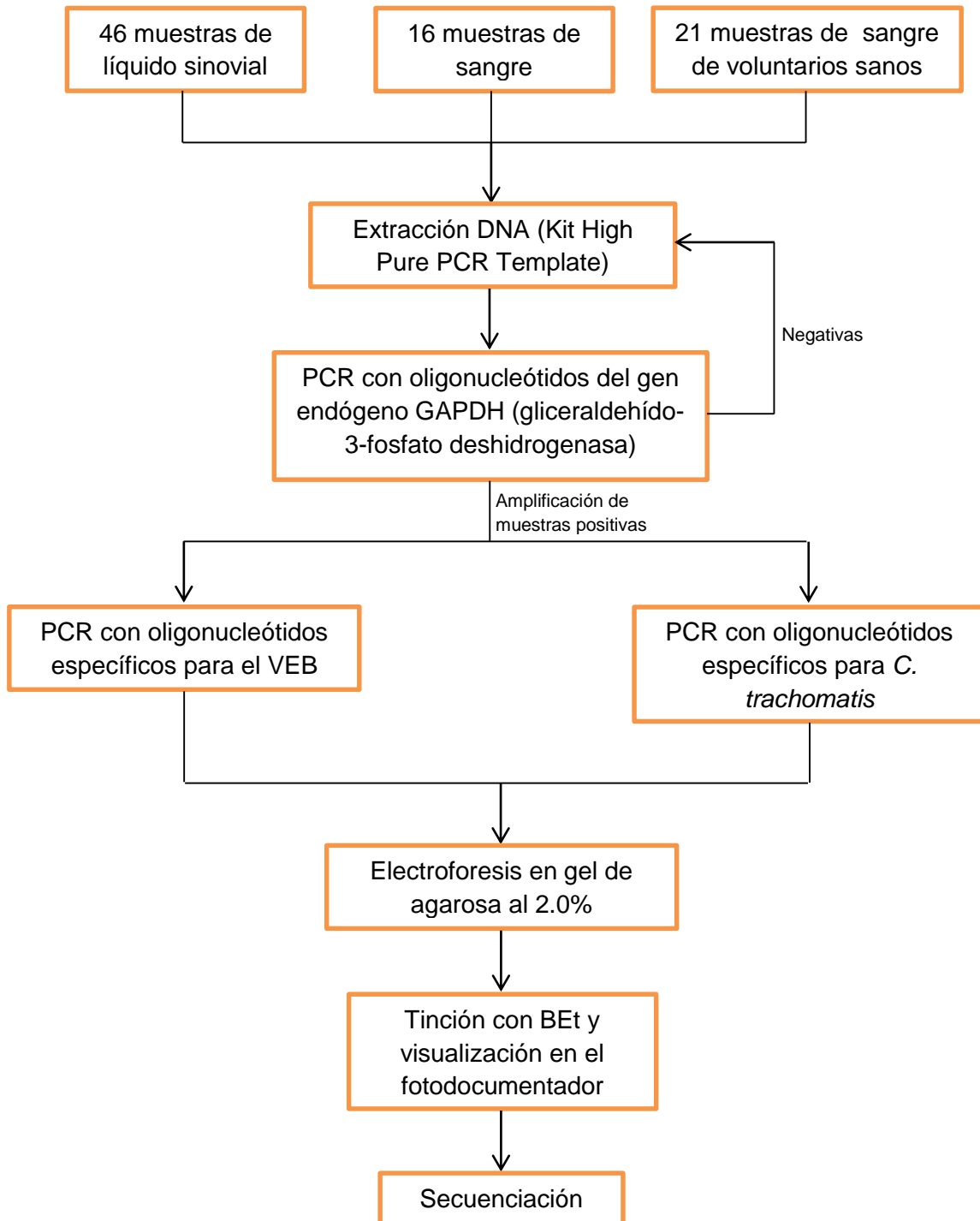
Personas que no cumplan los requisitos mencionados anteriormente.

8. Universo de estudio

En total se obtuvieron 62 muestras clínicas de líquido sinovial y sangre periférica, de éstas, 46 muestras son de líquido sinovial y 16 muestras son de sangre periférica. Estas muestras son provenientes del servicio de reumatología del centro médico de oriente “Gral. Manuel Ávila Camacho” IMSS del estado de Puebla y del hospital de traumatología y ortopedia “Doctor y General Rafael Moreno Valle” las cuales eran exclusivas de pacientes con enfermedades reumáticas.

Además, se obtuvieron 21 muestras de sangre periférica con la finalidad de ser utilizadas como control negativo por lo que éstas provienen de personas voluntarias que no presentaban ningún tipo de enfermedad o padecimiento reumático.

9. Esquema de trabajo



10. Metodología

10.1 Muestras

Se obtuvieron 46 muestras de líquido sinovial y 16 muestras de sangre de pacientes que presentaban algún tipo de enfermedad reumática, provenientes del centro médico de oriente “Gral. Manuel Ávila Camacho” Instituto Mexicano del Seguro Social del estado de Puebla, así como del hospital de traumatología y ortopedia “Doctor y General Rafael Moreno Valle” del mismo estado. Además de 21 muestras de sangre individuos voluntarios sanos, que no presentaban ninguna enfermedad reumática.

10.2 Extracción de ácidos nucleicos

A todas las muestras se le realizó la extracción de ADN mediante el **kit “High Pure PCR Template”** de Roche. Para hacer más eficiente el proceso y obtener mayor cantidad de ácidos nucleicos (ADN) de las muestras de líquido sinovial, éstas se centrifugaron a 14'000 rpm durante 15-20 minutos antes de empezar la extracción con las correspondientes instrucciones del kit. Al término de la extracción, las muestras de ADN eran cuantificadas en un nanofotómetro (Implen) para saber la concentración y grado de pureza de ADN.

10.3 Viabilidad de las muestras

Posteriormente para corroborar la integridad del ADN de estas muestras se realizó la amplificación por PCR punto final con oligonucleótidos específicos para el gen endógeno GAPDH (gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa) que amplifican un producto de 264pb (ver tabla 2). (Alineamiento de oligonucleótidos en anexos). El contenido de la reacción se indica en la tabla 3:

Nombre del gen	Tamaño del gen (pb)	Nombre del primer	Secuencia del primer	Tamaño del amplificado	Condiciones de la reacción PCR		Referencia
GAPDH	763	GAPDHFw	5'-GTGAAGGTCGGAGTCAACGGAT-3'	264pb	1 ciclo	94°C por 3 minutos	Balm et al. (2012)
					35 ciclos	94°C por 30 segundos	
		58°C por 30 segundos					
		72°C por 45 segundos					
GAPDHRv	5'-GCCAGCATCGCCCCACTTG-3'						

Tabla 2. Datos generales utilizados para la amplificación del gen endógeno GAPDH mediante la técnica de PCR.

Reacción PCR GAPDH	
H ₂ O	16.1 µL
10X DreamTaq Buffer (50 mM MgCl ₂)	2.5 µL
dNTPs (10mM)	1.25 µL
DreamTaq DNA polimerasa (5 U/ µL)	0.15 µL
Primer Forward (10 µM)	1.25 µL
Primer Reverse (10 µM)	1.25 µL
Templado	2.5 µL
Volumen final	25 µL

Tabla 3. Contenido de la reacción de PCR con los oligonucleótidos del gen endógeno GAPDH.

Al finalizar las reacciones de amplificación, se les realizó corrimiento electroforético en gel de agarosa al 2% y posteriormente fueron visualizadas en el fotodocumentador (Gel Logic 212 PRO). Las muestras que no presentaban el amplificado esperado, eran procesadas nuevamente desde la extracción del ADN, mientras que las que sí amplificaban se preparaban para la reacción con los oligonucleótidos señalados en la tabla 3 para la detección del VEB y *Chlamydia trachomatis*.

10.4 Amplificación de ácidos nucleicos para detección de VEB y *C. trachomatis*

Para la detección del VEB se realizó otra reacción de PCR punto final empleando oligonucleótidos específicos para este virus los cuales amplifican un producto de 229pb. (Alineamiento de oligonucleótidos en anexos). Y para la detección de *Chlamydia trachomatis* se emplearon oligonucleótidos específicos dirigidos al plásmido críptico de la bacteria con un amplificado de 241pb (ver tabla 4) (Alineamiento de oligonucleótidos en anexos). Cada reacción contenía lo designado en la tabla 5:

Nombre del gen	Tamaño del gen (pb)	Nombre del primer	Secuencia del primer	Tamaño del amplificado	Condiciones de la reacción PCR		Referencia
					Ciclos	Temperatura y tiempo	
BALF5	4'917	EBVFW	5'- CTTAGAATGGTGGCCGGGCTGTAAAAT -3'	229pb	1 ciclo	95°C por 5 minutos	Tanaka et al. (2009)
					45 ciclos	95°C por 30 segundos	
		63°C por 30 segundos					
		72°C por 30 segundos					
EBVRv	5'- ATCCAGTACGTCTTTGTGGAGCCCAAG -3'	1 ciclo	72°C por 8 minutos				
Plásmido	7'496	ChT-Fw	5'-TCCGGAGCGAGTTACGAAGA-3'	241pb	1 ciclo	95°C por 2 minutos	Frontela et al.

críptico	ChT-Rv	5'-AATCAATGCCCGGGATTGGT-3'	45 ciclos	95°C por 30 segundos	(2002)
				60°C por 1 minuto	
				72°C por 1:30 minutos	
				1 ciclo 72°C por 10 minutos	

Tabla 4. Datos generales utilizados para la amplificación del gen BALF5 del VEB y el plásmido críptico de *C. trachomatis* mediante la técnica de PCR.

Reacción PCR VEB y <i>Chlamydia trachomatis</i>	
H ₂ O	13.6 µL
10X DreamTaq Buffer (50 mM MgCl ₂)	2.5 µL
dNTPs (10mM)	1.25 µL
DreamTaq DNA polimerasa (5 U/ µL)	0.15 µL
Primer Forward (10 µM)	1.25 µL
Primer Reverse (10 µM)	1.25 µL
Templado	5.0 µL
Volumen final	25 µL

Tabla 5. Contenido de la reacción de PCR con los oligonucleótidos específicos para el VEB y *Chlamydia trachomatis*.

Las condiciones del termociclador para llevar a cabo las reacciones con los oligonucleótidos correspondientes a VEB y para las reacciones de *Chlamydia trachomatis* fueron los que se indican en la tabla 2. En cada caso se utilizó un NTC (Control Negativo de Templado) y un CP (Control Positivo) para verificar que las reacciones se estaban realizando de manera correcta y sin la presencia de contaminantes.

10.5 Secuenciación

Para finalizar el proyecto, 3 muestras positivas a VEB fueron enviadas a secuenciar para confirmar que el producto amplificado si correspondía al gen BALF5 del VEB.

10.5.1 Extracción y purificación de banda en gel

Para enviar a secuenciar se realizó extracción y purificación en gel de agarosa del producto amplificado. Para ello se realizaron nuevamente las reacciones de amplificación en un volumen de 25µL, las cuales contenían lo que se indica en la tabla 3 y fueron realizadas bajo las condiciones correspondientes en el termociclador mencionadas anteriormente. El gel de agarosa en las que fueron corridas las reacciones al ser finalizadas era del 0.7%, teñidas únicamente 20 segundos en BEt (Bromuro de etidio) y visualizadas en el fotodocumentador donde fueron cortadas las bandas para posteriormente ser pesadas en tubos tipo

eppendorf de 1.5ml y así continuar con el protocolo de extracción y purificación de banda según el kit de **“Agarose Gel DNA Extraction”**. Las muestras fueron preparadas y enviadas para su secuenciación.

11. Resultados

Todas las muestras que se estudiaron en este proyecto, amplificaron el gen endógeno GAPDH lo cual nos indica que el proceso de extracción de ADN fue exitoso.

De las 46 muestras en total de líquido sinovial, 22 pertenecían a pacientes con artritis reumatoide, y de esas, 8 (36.4%) resultaron positivas al VEB, y 12 provenían de personas con osteoartritis de las cuales 2 (16.7%) fueron positivas este virus. 12 muestras correspondían a pacientes con enfermedad reumática desconocida y de éstas sólo 6 (50%) fueron positivas a Epstein-Barr (Ver figura 6). De las 16 muestras de sangre, 6 pertenecían a enfermos de artritis reumatoide, 1 a pacientes con osteoartritis y 9 correspondían a pacientes de los cuales se desconocía su enfermedad, sólo de estos pacientes 3 (33.3%) muestras resultaron positivas al virus de Epstein-Barr (Ver figura 7).

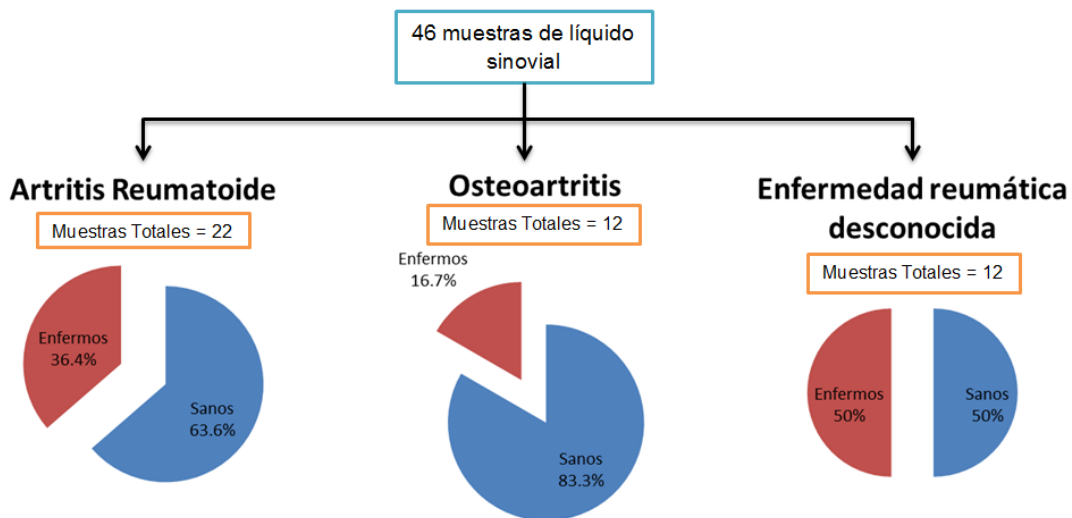


Figura 6. Porcentajes representados en gráficas del total de muestras de líquido sinovial distribuidas por enfermedad reumática.

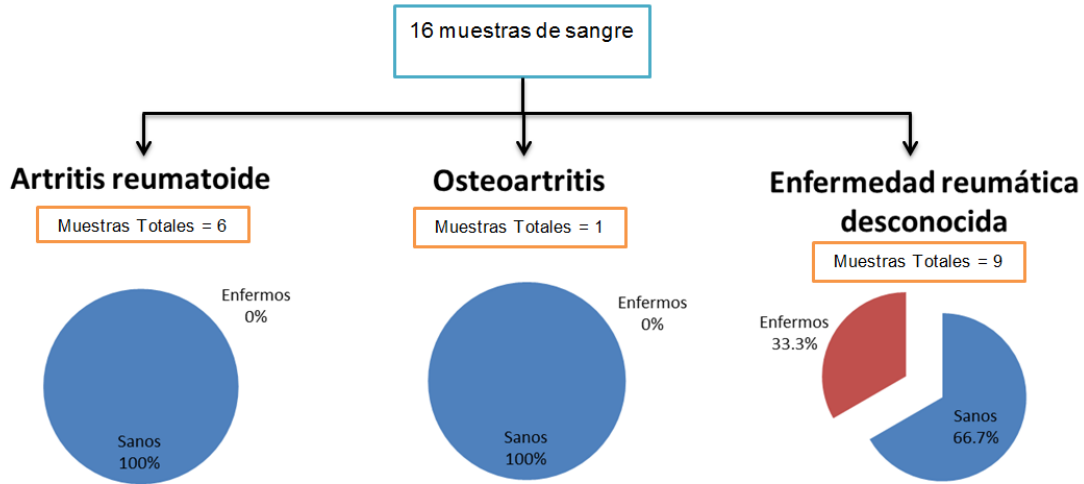
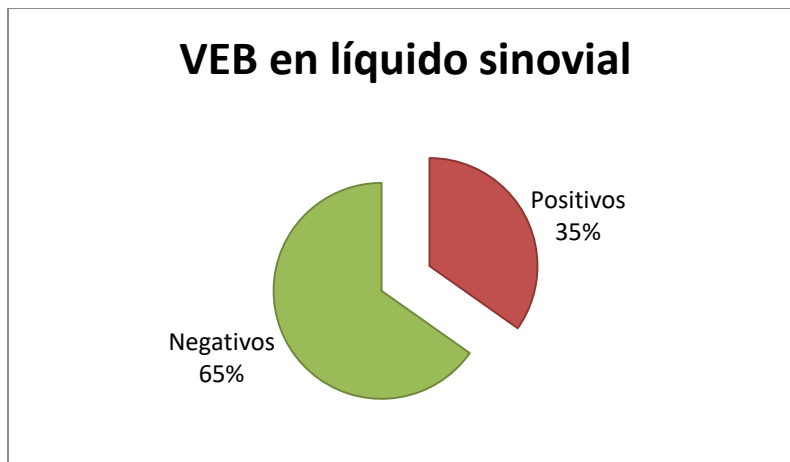


Figura 7. Porcentajes representados en gráficas del total de muestras de sangre periférica distribuidas por enfermedad reumática.

Con respecto a VEB se obtuvieron los siguientes resultados: 16 (35%) de las 46 muestras de líquido sinovial (ver gráfica 1), y 3 (19%) de las 16 muestras de sangre (ver gráfica 2) de pacientes enfermos fueron positivas a este virus, algunos ejemplos de muestras positivas se pueden apreciar en la figura 8 y la figura 9.



Gráfica 1. Porcentajes de muestras de líquido sinovial positivas y negativas a la reacción de PCR para la detección del Virus de Epstein-Barr (VEB).

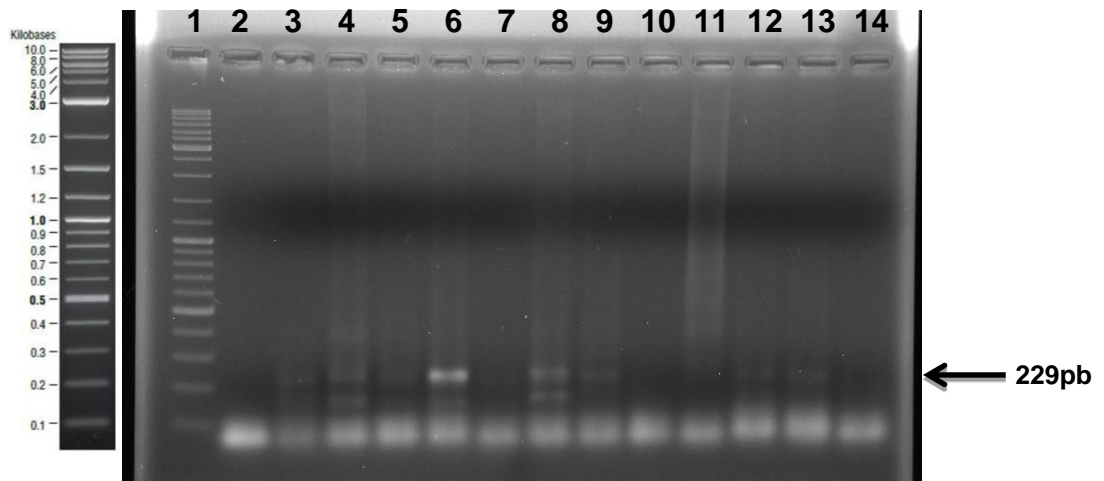
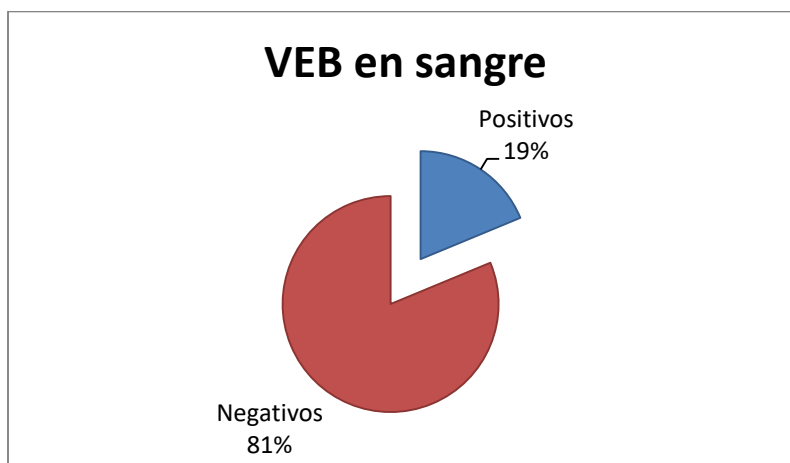


Figura 8. Corrimiento electroforético en gel de agarosa al 2% de productos de PCR con los oligonucleótidos específicos del VEB de muestras de líquido sinovial. 1. MPM (Marcador de peso molecular), 2. NTC (Control negativo de templado), 3. CP EBV (Control positivo al Virus Epstein-Barr), 4. Mx (Muestra) Apo-015/17, 5. Mx Apo-017/17, 6. Mx Apo-024/17, 7. Mx Apo-046/17, 8. Mx Apo-049/17, 9. Mx Apo-050/17, 10. Mx Apo-077/17, 11. Mx Apo-080/17, 12. Mx Apo-081/17, 13. Mx Apo-093/17, 14. Mx Apo-098/17. Del lado izquierdo se encuentra la imagen del MPM referenciando cada una de las bandas con sus respectivas medidas.



Gráfica 2. Porcentajes positivos y negativos a la reacción de PCR para la detección del Virus de Epstein-Barr (VEB) en muestras de sangre.

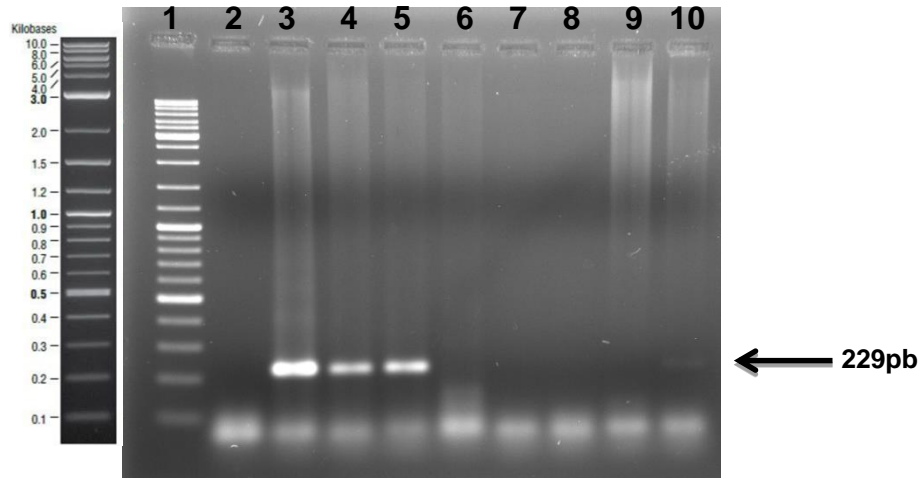


Figura 9. Corrimiento en Gel de agarosa al 2% donde se corrieron algunas de las reacciones con los oligonucleótidos específicos del VEB de las muestras de sangre. El producto esperado es de 229pb. 1. MPM, 2. NTC, 3. CP EBV, 4. Mx Apo-018/17, 5. Mx Apo-021/17, 6. Mx Apo-022/17, 7. Mx Apo-094/17, 8. Mx Apo-097/17, 9. Mx Apo-123/17, 10. Mx Apo-129/17. Del lado izquierdo se encuentra la imagen del MPM referenciando cada una de las bandas con sus respectivas medidas.

Para las muestras de sangre del grupo control negativo, de un total de 21 obtuvimos 2 (10%) muestras que fueron positivas al virus de Epstein-Barr (ver gráfica 3). En la figura 10 se puede observar el corrimiento electroforético en el gel de agarosa de estas muestras.



Gráfica 3. Porcentajes positivos y negativos de individuos sanos sometidos a la prueba del virus de Epstein-Barr.

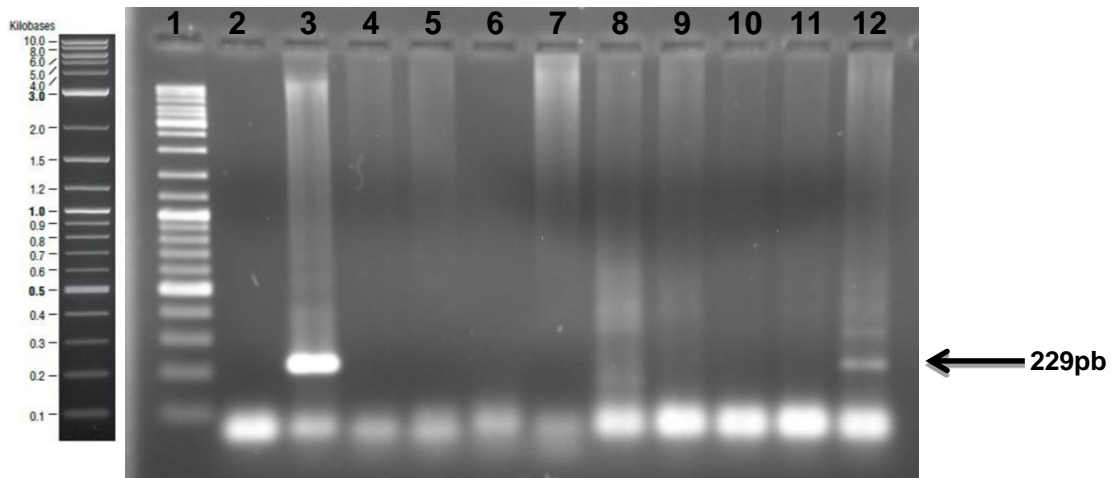


Figura 10. Gel de agarosa al 2%. El producto esperado es de 229pb. 1. MPM, 2. NTC, 3. CP EBV, 4. Mx Apo-133/18, 5. Mx Apo-134/18, 6. Mx Apo-110/18, 7. Mx Apo-139/18, 8. Mx Apo-140/18, 9. Mx Apo-141/18, 10. Mx Apo-142/18, 11. Mx Apo-143/18, 12. Mx Apo-144/18. Del lado izquierdo se encuentra la imagen del MPM referenciando cada una de las bandas con sus respectivas medidas.

C. trachomatis

Ninguna muestra (de líquido sinovial y sangre) fue positiva para esta bacteria. Al igual que ninguno de los 21 voluntarios sanos resultó positivo para *Chlamydia trachomatis*.

Secuenciación de muestras positivas a la amplificación de VEB

Una vez obtenidas las muestras positivas se realizó la secuenciación del amplificado (figura 11).

La secuencia reportada fue descargada en formato FASTA para buscar en el programa BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) a qué organismo correspondía, verificando así que nuestra banda en los geles de agarosa pertenecía a la amplificación de ácidos nucleicos del virus de Epstein-Barr.

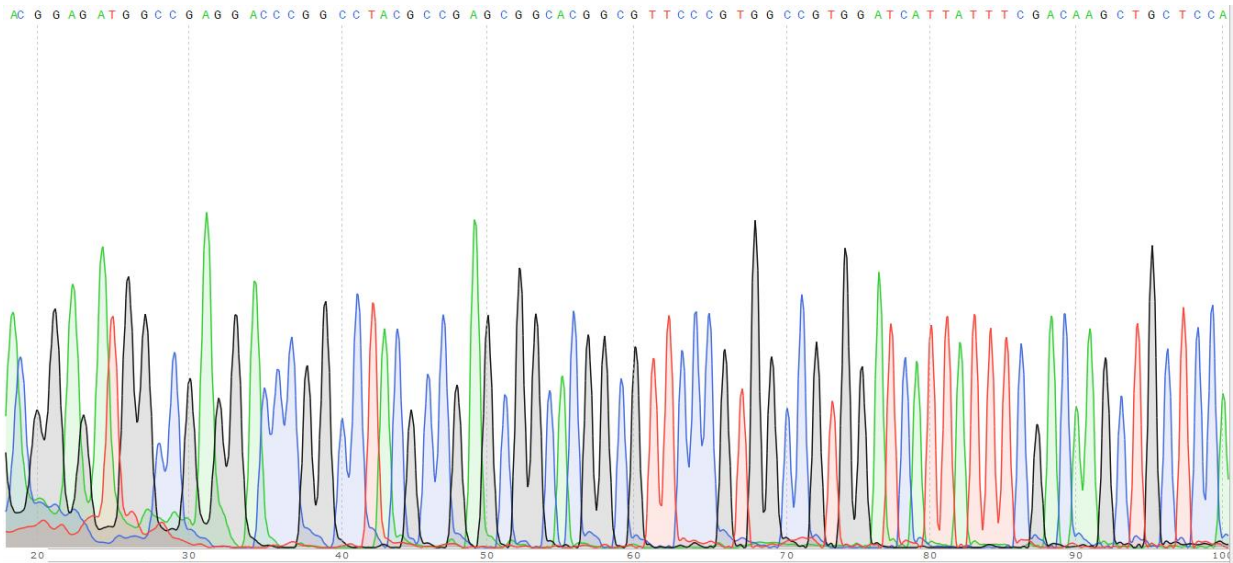


Figura 11. Resultados obtenidos de la secuenciación. Cada color representa una base, la cual se indica en la parte superior.

Descriptions		Graphic Summary	Alignments	Taxonomy		
Sequences producing significant alignments						
		Download	Manage Columns	Show 100		
<input checked="" type="checkbox"/> select all 100 sequences selected		GenBank	Graphics	Distance tree of results		
Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Human gammaherpesvirus 4 isolate NPCT115_complete_genome	346	346	96%	2e-91	99.48%	MK540470.1
<input checked="" type="checkbox"/> Human gammaherpesvirus 4 isolate NPCT114_complete_genome	346	346	96%	2e-91	99.48%	MK540469.1
<input checked="" type="checkbox"/> Human gammaherpesvirus 4 isolate NPCT113_complete_genome	346	346	96%	2e-91	99.48%	MK540468.1
<input checked="" type="checkbox"/> Human gammaherpesvirus 4 isolate NPCT112_complete_genome	346	346	96%	2e-91	99.48%	MK540467.1
<input checked="" type="checkbox"/> Human gammaherpesvirus 4 isolate NPCT111_complete_genome	346	346	96%	2e-91	99.48%	MK540466.1
<input checked="" type="checkbox"/> Human gammaherpesvirus 4 isolate NPCT110_complete_genome	346	346	96%	2e-91	99.48%	MK540465.1
<input checked="" type="checkbox"/> Human gammaherpesvirus 4 isolate NPCT109_complete_genome	346	346	96%	2e-91	99.48%	MK540464.1
<input checked="" type="checkbox"/> Human gammaherpesvirus 4 isolate NPCT108_complete_genome	346	346	96%	2e-91	99.48%	MK540463.1
<input checked="" type="checkbox"/> Human gammaherpesvirus 4 isolate NPCT107_complete_genome	346	346	96%	2e-91	99.48%	MK540462.1
<input checked="" type="checkbox"/> Human gammaherpesvirus 4 isolate NPCT106_complete_genome	346	346	96%	2e-91	99.48%	MK540461.1
<input checked="" type="checkbox"/> Human gammaherpesvirus 4 isolate NPCT105_complete_genome	346	346	96%	2e-91	99.48%	MK540460.1
<input checked="" type="checkbox"/> Human gammaherpesvirus 4 isolate NPCT104_complete_genome	346	346	96%	2e-91	99.48%	MK540459.1
<input checked="" type="checkbox"/> Human gammaherpesvirus 4 isolate NPCT103_complete_genome	346	346	96%	2e-91	99.48%	MK540458.1
<input checked="" type="checkbox"/> Human gammaherpesvirus 4 isolate NPCT102_complete_genome	346	346	96%	2e-91	99.48%	MK540457.1
<input checked="" type="checkbox"/> Human gammaherpesvirus 4 isolate NPCT101_complete_genome	346	346	96%	2e-91	99.48%	MK540456.1

Figura 12. Alineamientos significantes reflejados en BLAST de acuerdo a la secuencia en formato FASTA introducidos.

De acuerdo con estos resultados, deducimos que el amplificado observado en el corrimiento electroforético sí corresponde al virus de Epstein-Barr, ya que las 100 secuencias más significantes que nos arroja el programa pertenecen al virus del herpes tipo 4 (figura 12), donde el “E-value” es demasiado pequeño, lo cual nos indica que existe una gran confianza en el alineamiento y que éste, no fue producto del azar y efectivamente nuestras secuencias son homólogas. El porcentaje de identidad es alto, 99.48% y el “Query cover” igualmente es alto,

96%, esto nos indica que este porcentaje de nucleótidos fueron los que pudieron ser alineados y comparados con las secuencias mencionadas en la descripción.

Finalmente, pudimos verificar que la taxonomía descrita por nuestra secuencia de nucleótidos introducida en el programa fue “Human gammaherpesvirus 4” (figura 13).

100 sequences selected ?

Taxonomy	Number of hits	Number of Organisms	Description
Human gammaherpesvirus 4	106	1	Human gammaherpesvirus 4 hits

Figura 13. Taxonomía reportada por BLAST tras la realización del alineamiento.

12. Discusión

La artritis séptica o infecciosa puede no ser tan frecuente en la población, sin embargo, tiene una tasa alta de morbilidad, donde la mayoría de individuos la adquiere por vía hematógena, favorecida por el hecho anatómico que el tejido sinovial carece de una membrana basal ^[33]. Se estima que a pesar de los nuevos métodos diagnósticos (como la tomografía computarizada, la ecografía, o los análisis de sangre en busca de un marcador genético relacionado con la artritis reactiva) la morbilidad continúa siendo similar en los últimos 25 años y que esta cifra puede incrementarse por 10 en sujetos con osteoartritis o artritis reumatoide, con prótesis articular, ancianos, alcohólicos, diabéticos o inmunocomprometidos ^[34].

Los resultados obtenidos en este trabajo, donde encontramos un 35% y un 19% en líquido sinovial y en sangre, respectivamente, la presencia del virus del Herpes tipo 4 (Virus de Epstein-Barr), indican que los pacientes podrían asociar su enfermedad reumática a la presencia de este patógeno, en el caso de los pacientes con osteoartritis se puede sospechar que, debido al desgaste en las articulaciones se le facilitó la entrada al virus, mientras que para los pacientes con artritis reumatoide pudo haberse asociado esta enfermedad con una artritis séptica, donde dichos pacientes pudieron haber obtenido el virus en alguna etapa de su vida y que al mismo tiempo presentaban alguna predisposición genética, así el virus pudo ser uno de los factores de su desencadenamiento; y esto posiblemente tuvo inicio cuando el virus infectó a las células inmunes de los pacientes produciendo una proteína llamada antígeno nuclear 2 del VEB (EBNA2) que recluta a los factores de transcripción de la célula infectada para que se unan al genoma tanto del propio virus como de la célula hospedadora^[15], esto con la finalidad de utilizar la maquinaria molecular y genética de la célula para producir más copias del virus y seguir propagando la infección, así éste virus puede alterar la expresión genética de las células infectadas y aumentar el riesgo de desarrollar enfermedades autoinmunes. Se podría suponer que los linfocitos B infectados viajan por el torrente sanguíneo hasta llegar a las articulaciones donde, al tratarse de un tejido blando, los componentes del sistema inmunitario atacan fácilmente

provocando la inflamación (artritis), dando lugar a la hinchazón, dolor y frecuentemente a la destrucción articular. También sería de gran importancia tomar en cuenta si estos pacientes presentan el antígeno HLA B27 para poder comparar y completar el cuadro de estudio.

Comparando los resultados obtenidos en este trabajo con los resultados de otros autores como el de *Mahabadi et al.*, 2016, podemos notar que el porcentaje positivo de EBV en líquido sinovial es menor a los que ellos obtuvieron, a pesar de que el universo de estudio fue similar, cabe recalcar que todos los pacientes a los que ellos sometieron al diagnóstico del virus eran exclusivos del padecimiento de artritis reumatoide. Mientras que al comparar los resultados con el trabajo de *Masuoka et al.*, 2018, nos es posible observar que al igual que en nuestro caso, sus porcentajes positivos a la presencia del VEB en el líquido sinovial es mayor en pacientes con AR que en aquellos que padecen osteoartritis.

En cuanto a *Chlamydia trachomatis*, posiblemente no pudimos detectar su presencia en las muestras clínicas de sangre y líquido sinovial debido a que como ya se mencionó, a esta bacteria sólo se le ha relacionado con la artritis reactiva, y quizás ninguno de los pacientes (con enfermedad reumática desconocida) presentaba dicha enfermedad, aunado esto a la teoría de que se han reportado inconvenientes en las técnicas diagnósticas que solamente disponen de dianas en el plásmido críptico de la bacteria ya que existe ~1% de cepas que carecen de dicho plásmido, por lo que también se habría considerado prudente llevar a cabo una amplificación de ácidos nucleicos con oligonucleótidos dirigidos al gen ompA que codifica para la proteína de membrana externa MOMP^[35, 36]. Según *Freise et al.*, 2009, la determinación de *Chlamydia trachomatis* en las muestras de líquido sinovial está todavía sometida a variaciones técnicas pendientes de validación ^[37], quizás debido a esto nuestra técnica de extracción de ADN no fue del todo efectiva para este tipo de estudios o simplemente estos pacientes no se encontraban infectados por esta bacteria, ya que nuestra muestra utilizada como control positivo proveniente de un exudado vaginal, sí nos daba el amplificado del producto esperado. Los laboratorios emplean diferentes métodos para la

preparación de templado de ADN, así como diferentes sistemas de amplificación. Esta diversidad probablemente contribuya a la variabilidad de las pruebas positivas para *C. trachomatis* en muestras clínicas de líquido sinovial. *Freise, et al.*, indican que la lisis alcalina y el kit de DNA QIAamp en combinación con bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB), el cual es un tensoactivo catiónico agregado en el tampón de extracción de ADN, que disocia y precipita selectivamente el ADN de las proteínas histonas, son los sistemas de prueba más sensibles para la detección de ADN clamidial en diluciones de líquido sinovial. También señalan que para llevar a cabo la reacción de PCR, los oligonucleótidos dirigidos al gen *omp1* son los más efectivos.

De las 21 muestras de sangre que estaban indicadas para ser utilizadas como control negativo, 2 resultaron positivas al virus de Epstein-Barr, debido a que como ya se mencionó anteriormente, este virus tiene una alta seroprevalencia en la población de adultos de aproximadamente el 95% [38], por lo que podríamos intuir que estos individuos se encontraban cursando una infección por el virus de una forma asintomática.

Aunque el papel del VEB en la autoinmunidad es biológicamente plausible y la evidencia de respuestas inmunes alteradas al virus es abundante en varias enfermedades autoinmunes, la inferencia sobre la causalidad requiere la determinación de que el riesgo de enfermedad es mayor en individuos infectados con VEB que en aquellos no infectados y que en estos últimos aumenta después de la infección por VEB [18].

También debe considerarse importante, como Hanlon, Avenell, Aucott, & Vickers [17] mencionan, establecer si la infección por EBV está relacionada con otras enfermedades autoinmunes, ya que esta información nos sería útil para determinar si el virus es importante en el desarrollo de la autoinmunidad en general o si está implicado solo en afecciones inmunomediadas específicas.

13. Conclusión

Aunque la etiología para algunas enfermedades reumáticas resulta ser multifactorial y aún no se ha encontrado el factor que las desencadena, es importante realizar este tipo de estudios para detectar la presencia de algunas bacterias y virus que podrían estar involucrados en el inicio o evolución de este tipo de enfermedades. Aunque la frecuencia de la presencia del virus de Epstein-Barr en las muestras de los pacientes reumáticos no fue alta, pudimos detectar su presencia, lo que nos es útil para confirmar una relación con las enfermedades reumáticas como lo es la artritis reumatoide. Está por demás mencionar que las muestras, al presentar ADN viral, se asocia con una artritis infecciosa, la cual también se ha visto y reportado en bibliografía que tiene una fuerte relación con los pacientes con artritis reumatoide.

A pesar de que no pudimos detectar exitosamente la presencia de *Chlamydia trachomatis* no podemos descartar la idea de que esta bacteria también tiene un papel importante en las enfermedades reumáticas, ya que existe una amplia cantidad de bibliografía que reporta su asociación. Podemos atribuir nuestros resultados negativos a nuestra técnica de extracción de ADN y a la realización de la PCR con los oligonucleótidos dirigidos al plásmido críptico, o simplemente afirmar que las articulaciones de estos pacientes no fueron infectadas por *C. trachomatis*.

14. Perspectivas

- Ampliar nuestro universo de estudio, a tal modo de tener la misma cantidad de pacientes enfermos y de individuos sanos, y conseguir muestras pareadas de líquido sinovial y sangre provenientes de personas con un rango de edad exacto.
- Realizar las reacciones de PCR con oligonucleótidos dirigidos al gen ompA de *Chlamydia trachomatis*. Así como probar otra técnica de extracción de ADN.

- Llevar a cabo la técnica de PCR para la detección de *Chlamydia pneumoniae* ya que esta especie perteneciente al mismo filo de *C. trachomatis*, también se le ha visto involucrada con la artritis.
- Tener un seguimiento de individuos jóvenes infectados con el virus de Epstein-Barr para observar si tras esta infección ocurre un desarrollo de una enfermedad reumática.

15. Bibliografía

- [1] Oliva-Gutiérrez, E., Martínez-Godoy, M. P., Zapata-Zúñiga, M., & Sánchez-Rodríguez, S. H. (2012). Artritis Reumatoide: Prevalencia, inmunopatogenia y antígenos relevantes para su diagnóstico. *Archivos de Medicina*, 8(1).
- [2] Negroni, M. (2009). *Microbiología estomatológica*. Ed. Médica Panamericana.
- [3] Cabello, R. R. (2007). *Microbiología y parasitología humana/Microbiology and Human Parasitology: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias/Etiological Basis of Infectious and Parasitic Diseases*. Ed. Médica Panamericana.
- [4] Javier Zepeda, C. A. (1999). Mononucleosis infecciosa y síndromes similares. *RevMedHondur*, 67(4), 248-57.
- [5] Vera-Izaguirre, D. S., Chávez-Tapia, N. C., Lizardi-Cervera, J., & Méndez-Sánchez, N. (2003). Mononucleosis infecciosa. *Medica Sur*, 10(2), 76-89.
- [6] Masuoka, S., Kusunoki, N., Takamatsu, R., Takahashi, H., Tsuchiya, K., Kawai, S., & Nanki, T. (2018). Epstein-Barr virus infection and variants of Epstein-Barr nuclear antigen-1 in synovial tissues of rheumatoid arthritis. *PLoS one*, 13(12), e0208957. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208957>
- [7] Ortiz, O. L. O., & Sánchez, R. M. (2003). Chlamydia trachomatis: avances y perspectivas. *Nova*, 1(1), 81-93.
- [8] Elwell, C., Mirrashidi, K., & Engel, J. (2016). Chlamydia cell biology and pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology*, 14(6), 385.
- [9] Luis, M., Zhong, G., & Brunham, R. C. (2017). Update on Chlamydia trachomatis vaccinology. *Clin. Vaccine Immunol.*, 24(4), e00543-16.
- [10] Peláez-Ballesteros I, Sanin LH, Moreno-Montoya J, Álvarez-Nemegyei J, Burgos Vargas R, Garza-Elizondo M, et al., Grupo de Estudio Epidemiológico de Enfermedades Músculo Articulares (GEEMA). Epidemiology of the rheumatic

diseases in Mexico. A study of 5 regions based on the COPCORD methodology. *J Rheumatol.* 2011; 86:3-8.

[11] Sanmartí, R.. (2004). Monografías SER Espondiloartritis. Buenos Aires; Madrid: EDITORIAL MEDICA Panamericana. Sociedad Española de Reumatología. pp. 251-252.

[12] González, C.. (2006). Monografías SER Artritis infecciosas. Buenos Aires; Madrid: EDITORIAL MEDICA Panamericana. Sociedad Española de Reumatología. pp. 103-112.

[13] IMSS (2009). Evaluación de Riesgos Considerados en el Programa de Administración de Riesgos Institucionales. Octubre 2009.

[14] Turrión Nieves, A., Martín Holguera, R., Pérez Gómez, A., & Álvarez de Mon-Soto, M. (2017). Artritis reumatoide. *Medicine (Spain)*, 12(28), 1615–1625. <https://doi.org/10.1016/j.med.2017.02>.

[15] Harley, J. B., Chen, X., Pujato, M., Miller, D., Maddox, A., Forney, C., ...Weirauch, M. T. (2018). Transcription factors operate across disease loci, with EBNA2 implicated in autoimmunity. *Nature Genetics*, 50(5), 699–707. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0102-3>

[16] Tosato G, Steinberg AD, Blaese RM. Defective EBV-specific suppressor T-cell function in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 1981; 305(21):1238–43. <https://doi.org/10.1056/NEJM198111193052102> PMID: 6270556.

[17] Hanlon, P., Avenell, A., Aucott, L., & Vickers, M. A. (2014). Systematic review and meta-analysis of the sero-epidemiological association between Epstein-Barr virus and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Research and Therapy*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/ar4429>

[18] Ascherio, A., & Munger, K. L. (2015). EBV and autoimmunity. In *Epstein Barr Virus* (Vol. 1, pp. 365–385). https://doi.org/10.1007/978-3-319-22822-8_15

[19] Jones, B. R. (1958). (*Toconcluded*) *Aortography and*

Schmeichler demonstrated inclusion bodies , similar girlaged No cytoplasmic. 902–905.

[20] Willkens RF, Arnett FC, Bitter T, Calin A, Fisher L, Ford DK, et al. Reiter's syndrome. Evaluation of preliminary criteria for definite disease. *Arthritis Rheum.* 1981;24:844–9

[21] Centers of Disease Control and Prevention. Chlamydia [consultado 2019]. Disponible en: www.cdc.gov/std/stats07/chlamydia.htm

[22] López-Hurtado, M., García-Romero, S., Escobedo-Guerra, M. R., Bustos-López, D., & Guerra-Infante, F. M. (2018). Prevalencia de la infección genital por *Chlamydia trachomatis* en mujeres que asisten al Instituto Nacional de Perinatología de la Ciudad de México. *Revista chilena de infectología*, 35(4), 371–376.

[23] Zarco Montejó, P. (2012). Diagnóstico y tratamiento de la artritis relacionada con la infección por clamidia. *Reumatología Clínica*, 8, 20–25. <https://doi.org/10.1016/j.reuma.2011.11.003>

[24] Granfors K, Merilahti-Palo R, Luukkainen R, Mottonen T, Lahesmaa R, Probst P, et al. Persistence of *Yersinia* antigens in peripheral blood cells from patients with *Yersinia enterocolitica* O:3 infection with or without reactive arthritis. *Arthritis Rheum.* 1998;41:855–62.

[25] Gerard HC, Whittum-Hudson JA, Carter JD, Hudson AP. Biología molecular de los agentes infecciosos en la artritis crónica. *Rheum Dis Clin N Am.* 2009;35:1–19.

[26] Shirliff, M. E., & Mader, J. T. (2002). Acute Septic Arthritis. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(4), 527–544. <https://doi.org/10.1128/cmr.15.4.527-544.2002>

[27] Marks, M., & Marks, J. L. (2016). Viral arthritis. *Clinical Medicine*, 16(2), 129–134. <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.16-2-129>

- [28] Holland, R., Barnsley, L., & Barnsley, L. (s.f.). RACGP - Viral arthritis. Recuperado 15 octubre, 2019, de <https://www.racgp.org.au/afp/2013/november/viral-arthritis/>
- [29] Cheeti, A., & Ramphul, K. (2019). Arthritis, Reactive (Reiter Syndrome). In *StatPearls*. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29763006>
- [30] Llorente, D., & Cedeño, S. (2009). Síndrome de Reiter. *Archivos de Medicina*, 5(1). <https://doi.org/10.3823/023>
- [31] Whitley, R. J. (1996). Herpesviruses. In *Medical Microbiology*. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21413307>
- [32] Elwell, C., Mirrashidi, K., & Engel, J. (2016). Chlamydia cell biology and pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology*, 14(6), 385–400. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.30>
- [33] Florestano, C., Fica, A., Gaete, N., Porte, L., & Braun, S. (2014). Artritis séptica en pacientes adultos en un hospital general de Chile. *Revista chilena de infectología*, 31(4), 435–443. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182014000400009>
- [34] Ornelas-Aguirre, J. M. (2016). Artritis séptica en un centro de adultos de tercer nivel de atención. *Reumatología Clínica*, 12(1), 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.reuma.2015.02.003>
- [35] Galán, J., Alonso, R., Gutiérrez, J., Rodríguez-Domínguez, M., Salinas, J., & Sanbonmatsu, S. (n.d.). *Procedimientos en Microbiología Clínica Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón*.
- [36] López-Hurtado, M., Cuevas-Recillas, K. N., Flores-Salazar, V. R., & Guerra-Infante, F. M. (2015). ADN de Chlamydia trachomatis en leucocitos de sangre periférica de neonatos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(7), 458–463. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.09.019>
- [37] Freise, J., Bernau, I., Meier, S., Zeidler, H., & Kuipers, J. G. (2009). Detection

of Chlamydia trachomatis-DNA in synovial fluid: evaluation of the sensitivity of different DNA extraction methods and amplification systems. *Arthritis Research & Therapy*, 11(6), 1–10. <https://doi.org/10.1186/ar2864>

[38] Mehraein, Y., Lennerz, C., Ehlhardt, S., Remberger, K., Ojak, A., & Zang, K. D. (2004). Latent Epstein–Barr virus (EBV) infection and cytomegalovirus (CMV) infection in synovial tissue of autoimmune chronic arthritis determined by RNA- and DNA-in situ hybridization. *Modern Pathology*, 17(7), 781–789. <https://doi.org/10.1038/modpathol.3800119>

[39] Castro-Santos, Patricia, Gutiérrez, Miguel A, & Díaz-Peña, Roberto. (2014). Genética, HLA-B27 y espondilitis anquilosante: 40 años. *Revista médica de Chile*, 142(9), 1165-1173. <https://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872014000900011>

[40] Iáñez, E. (s.f.). CURSO DE INMUNOLOGIA GENERAL. 16: El sistema del complemento. Recuperado 3 enero, 2020, de https://www.ugr.es/%7Eeianez/inmuno/cap_16.htm

[41] Jutinico Shubach, A. P., González Devia, J. L., & Sánchez Mora, R. M. (2017). Asociación de HSP60 de Chlamydia trachomatis y desarrollo de cáncer de ovario. *Nova*, 15(28), 57. <https://doi.org/10.22490/24629448.2079>

[42] Ruiz-Esquide, V., & Sanmartí, R. (2012). Tabaco y otros factores ambientales en la artritis reumatoide. *Reumatología Clínica*, 8(6), 342–350. <https://doi.org/10.1016/j.reuma.2012.02.011>

[43] Delgado-Vega, Angélica María, Martín, Javier, Granados, Julio, & Anaya, Juan Manuel. (2006). Epidemiología genética de la artritis reumatoide: ¿qué esperar de América Latina?. *Biomédica*, 26(4), 562-584. Retrieved February 13, 2020, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572006000400011&lng=en&tlng=es

[44] Ortiz, L., Arévalo, M., & Rosales, D. (2010). Artritis reumatoide: algunos aspectos inmunológicos. *Revista Médica de la Extensión Portuguesa*, 4(2), 41-56.

[45] Venuturupalli, S. (2017). Immune Mechanisms and Novel Targets in Rheumatoid Arthritis. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, 37(2), 301–313. <https://doi.org/10.1016/j.iac.2017.01.002>

[46] Diagnóstico y tratamiento de la Mononucleosis. México: Instituto Mexicano del Seguro Social, 2010. Recuperado 13 febrero, 2020, de <https://www.cenetec.salud.gob.mx/interior/gpc.html>

[47] ALPIZAR-RODRIGUEZ, D., & FINCKH, A. (2019). Menopause and Possible Effect on Association Between Age and Anticyclic Citrullinated Peptide Antibodies in Women At Risk of Rheumatoid Arthritis. *The Journal of Rheumatology*, 47(2). <https://doi.org/10.3899/jrheum.190836>

[48] Alsaber, A., Pan, J., Al-Herz, A., Alkandary, D., Al-Hurban, A., Setiya, P., & On behalf of the KRRD Group, (2020). Influence of Ambient Air Pollution on Rheumatoid Arthritis Disease Activity Score Index. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(2). <https://doi.org/10.3390/ijerph17020416>

[49] Scherer, H. U., Häupl, T., & Burmester, G. R. (2020). The etiology of rheumatoid arthritis. *Journal of Autoimmunity*, . <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2019.102400>

[50] Loyola-Sanchez, A., Richardson, J., Pelaez-Ballestas, I., Alvarez-Nemegyei, J., Lavis, J. N., Wilson, M. G., & Wilkins, S. (2016). The impact of arthritis on the physical function of a rural Maya-Yucateco community and factors associated with its prevalence: a cross sectional, community-based study. *Clinical rheumatology*, 35 Suppl 1(Suppl 1), 25–34. <https://doi.org/10.1007/s10067-015-3084-x>

[51] Esteban, J., Marín, M., Meseguer, M. A., & Sánchez-Somolinos, M. (2009). Diagnóstico microbiológico de las infecciones osteoarticulares. In *Procedimientos en Microbiol. Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española Enfermedades Infecciosas y Microbiol. Clínica*.

[52] Ishmael, F. T., & Stellato, C. (2008). Principles and applications of polymerase chain reaction: basic science for the practicing physician. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 101(4), 437–443. [https://doi.org/10.1016/s1081-1206\(10\)60323-7](https://doi.org/10.1016/s1081-1206(10)60323-7)

[53] Tanaka, T., Kogawa, K., Sasa, H., Nonoyama, S., Furuya, K., & Sato, K. (2009). Rapid and simultaneous detection of 6 types of human herpes virus (herpes simplex virus, varicella-zoster virus, Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, human herpes virus 6A/B, and human herpes virus 7) by multiplex PCR assay. *Biomedical Research*, 30(5), 279–285. <https://doi.org/10.2220/biomedres.30.279>

[54] Mahabadi, M., Faghihiloo, E., Alishiri, G. H., Ataee, M. H., & Ataee, R. A. (2016). Detection of Epstein-Barr virus in synovial fluid of rheumatoid arthritis patients. *Electronic physician*, 8(3), 2181–2186. <https://doi.org/10.19082/2181>

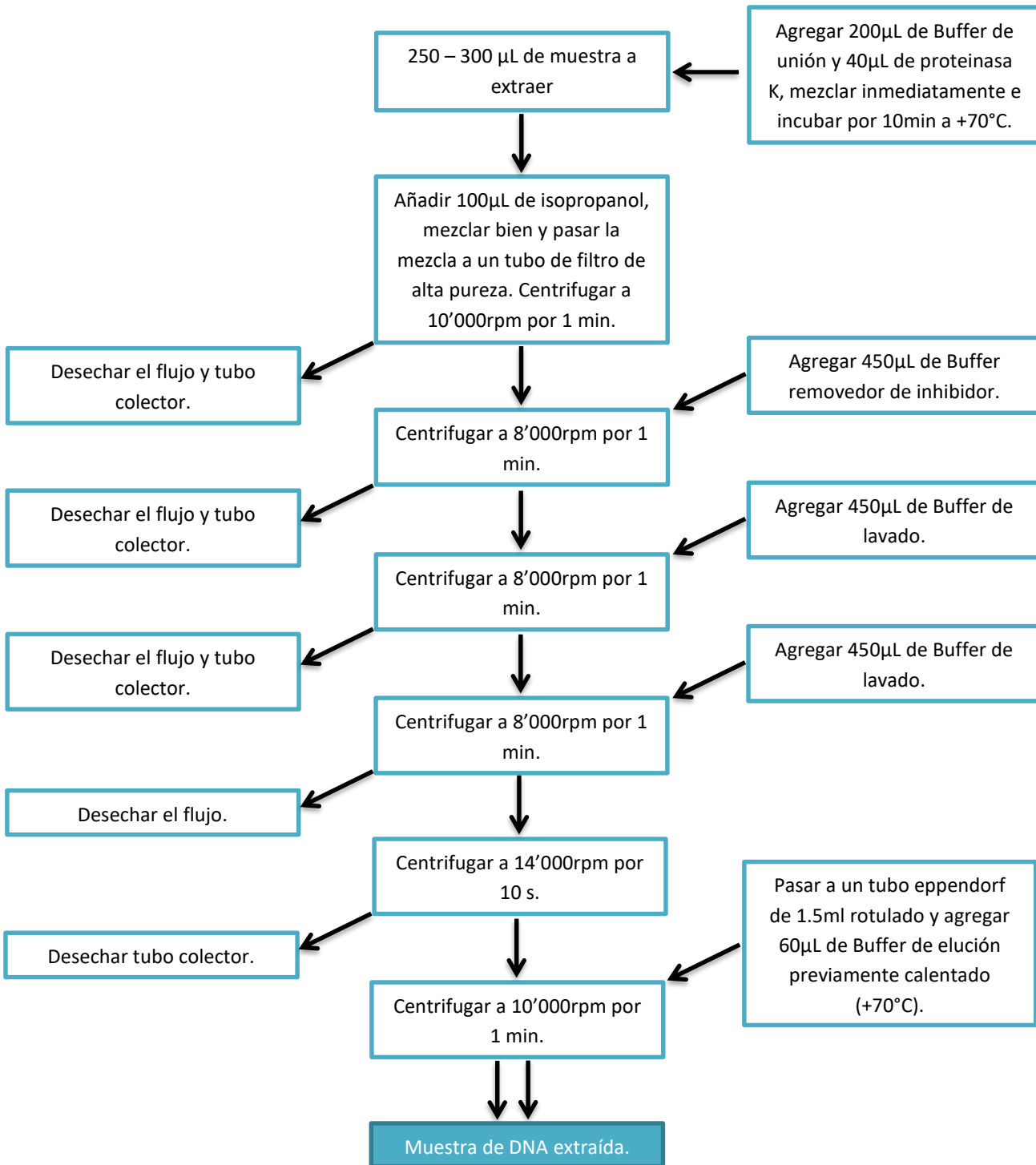
[55] Frontela Noda, Maydelín, Amores Sánchez, Isis, Yepe Oliveros, Sanda, Kourí, Vivian, Ferreira Capote, Raúl, & Mallea Sánchez, Lorenzo. (2002). Detección de *Chlamydia trachomatis* en muestras de exudado endocervical por la reacción en cadena de la polimerasa. *Revista Cubana de Endocrinología*, 13(2) Recuperado en 23 de febrero de 2020, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-29532002000200006&lng=es&tlng=es.

[56] Balm, M. N., Lee, C. K., Lee, H. K., Chiu, L., Koay, E. S., & Tang, J. W. (2012). A diagnostic polymerase chain reaction assay for Zika virus. *Journal of Medical Virology*, 84(9), 1501–1505. <https://doi.org/10.1002/jmv.23241>

16. Anexos

16.1 Kits y reactivos utilizados

16.1.1 High Pure PCR Template



16.1.2 Agarose Gel DNA Extraction Kit

Aislamiento de fragmentos de DNA separados por electroforesis

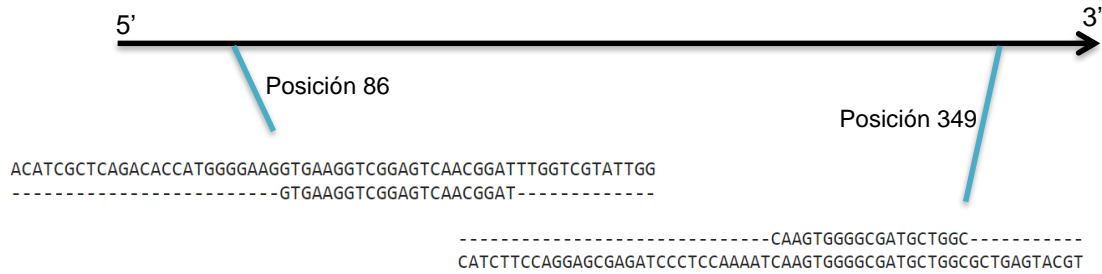
1. Separar el DNA de interés en un gel de agarosa de concentración adecuada.
(Usar ya sea TAE 1X o TBE 1X Buffer de corrimiento)
2. Después de una separación suficiente cortar el fragmento de DNA de interés y guardarlo en un microtubo de 1.5 ml.
3. Usar 300µL de Buffer de solubilización de agarosa (Vial 2) por 100mg de agarosa.
(Aplicar 600µL si la concentración de agarosa usada para la preparación del gel es mayor al 2%).
4. Resuspender la suspensión sílica (Vial 1) hasta obtener una suspensión homogénea.
Agregar 10µL de la suspensión sílica a la muestra.
5. Incubar la mezcla por 10min a 56-60°C y vortexear cada 2-3min.
6. Centrifugar por 30s a máxima velocidad y descartar sobrenadante.
7. Resuspender la matriz, que contiene el DNA con 500µL del buffer de unión de ácidos nucleicos (Vial 3) y vortexear la mezcla.
Centrifugar y descartar el sobrenadante.
8. Lavar la pastilla con 500µL de buffer de lavado (Vial 4). Centrifugar y descartar el sobrenadante.
Repetir paso.
9. Remover todo el líquido con una pipeta e invertir el tubo en un papel absorbente y dejar secar a temperatura ambiente por 15min o hasta que la pastilla regrese a su color blanco brillante.
10. Use 50µL de buffer de elución de DNA. Vortexear e incubar por 15-25min a 56-60°C y vortexear cada 2-3min. Centrifugar a máxima velocidad y transferir a un tubo nuevo de 1.5ml.

16.2 Secuencias y alineamientos de primers

16.2.1 GAPDH

Homo sapiens glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), transcript variant 6, non-coding RNA

NCBI Reference Sequence: NR_152150.2

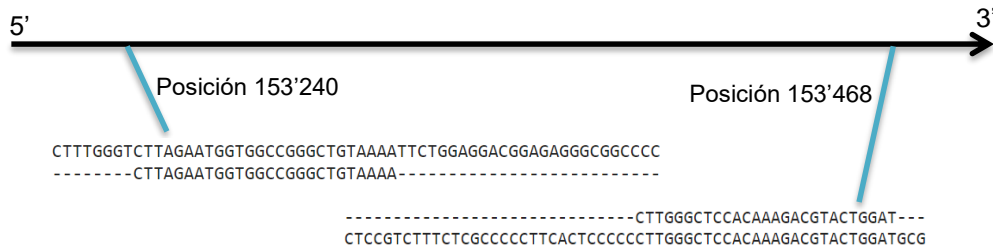


GTGAAGGTCGGAGTCAACGGATTTGGTCGTATTGGGCGCCTGGTCACCAGGGCTGCTTTTAACTCTGGTAAAG
TGGATATTGTTGCCATCAATGACCCCTTCATTGACCTCAACTACATGGTTTACATGTTCCAATATGATTCCAC
CCATGGCAAATTCCATGGCACCGTCAAGGCTGAGAACGGGAAGCTTGTTCATCAATGGAAATCCCATCACCATC
TTCCAGGAGCGAGATCCCTCCAAAAT**CAAGTGGGGCGATGCTGGC**

16.2.2 Human gammaherpesvirus 4, complete genome

BALF5 DNA polymerase catalytic subunit [*Human gammaherpesvirus 4* (Epstein-Barr virus)]

NCBI Reference Sequence: NC_007605.1

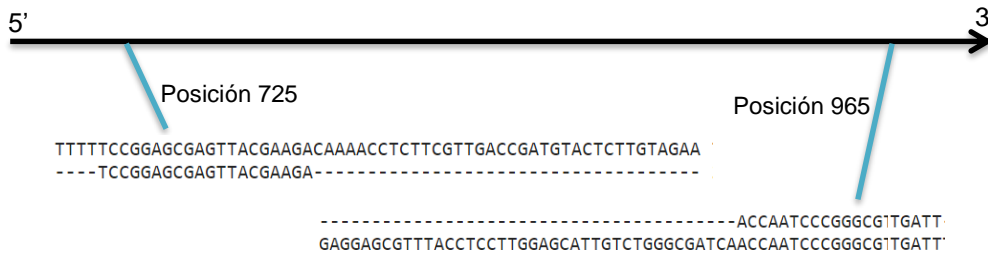


CTTGAATGGTGGCCGGGCTGTAAAATTCTGGAGGACGGAGAGGGCGGCCCCGGAGTTGTTATCAAAGAGGCA
CTGGAGGATGTTGGCCGCTCCTTGGAGCAGCTTGTGCGAAATAATGATCCACGGCCACGGGAACGCCGTGCCGC
TCGGCGTAGGCCGGGTCTCGGCCATCTCCGTCTTTCTCGCCCCCTTCACTCCCC**CTTGGGCTCCACAAAGA**
CGTACTGGAT

16.2.3 Plásmido críptico *Chlamydia trachomatis*

Chlamydia trachomatis plasmid pCTT1 unknown proteins (ORF2-7) and dnaB-like protein genes, complete cds, and unknown protein (ORF1) and replication protein genes, partial cds

GenBank: M19487.1



TCCGGAGCGAGTTACGAAGACAAAACCTCTTCGTTGACCGATGTACTCTTGTAGAAAGTGCATAAACTTCTGAGGATAAGTTATAATAATCCTCTTTTCTGTCTGACGGTTCTTAAGCTGGGAGAAAGAAATGGTAGCTTGTTGGAACAAATCTGACTAATCTCCAAGCTTAAGACTTCAGAGGAGCGTTTACCTCCTTGGAGCATTGTCTGGGCGATCAACCAATCCCGGGCGTTGATT

Secuencias descargadas de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Alineamientos realizados en: <https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>

17. Glosario

Anillo de Waldeyer: Anillo de tejido linfático que se encuentra en la garganta. Está formado por las amígdalas, las adenoides y otros tejidos linfoides. Contiene linfocitos.

Antígeno: Sustancia que al introducirse en el organismo induce en este una respuesta inmunitaria, provocando la formación de anticuerpos.

Antígeno leucocitario humano: proteínas que ayudan al sistema inmunitario del cuerpo a diferenciar entre sus propias células y sustancias extrañas y dañinas.

Aparato genitourinario: Que se encuentra formado por los órganos encargados de la producción y eliminación de la orina así como por los órganos del aparato reproductor.

Apoptosis: Tipo de destrucción o muerte celular programada en la que una serie de procesos moleculares en la célula conducen a su muerte.

Articulación diartrodial: Articulación con movimiento libre y con cavidad articular. Este tipo de articulación permite el máximo de movimiento.

Articulación subtalar: Articulación que separa el hueso del talón (hueso calcáneo) del hueso que se mueve hacia arriba y hacia abajo dentro de la articulación del tobillo (astrágalo).

Artralgia: Dolor articular.

Autoanticuerpos: Anticuerpos dirigidos contra antígenos del propio organismo.

Blenorrea de inclusión: Infecciones del tracto genital y de la conjuntiva del recién nacido.

Carditis: Inflamación del corazón, especialmente referida a la de origen reumático. Es la manifestación principal más grave de la fiebre reumática.

Célula T supresora: Tipo de célula inmunitaria que impide la acción de algunos otros tipos de linfocitos para que el sistema inmunitario no se vuelva sobreactivo.

Células linfoides: Células que conforman el sistema inmune.

Células NK: Son un tipo de linfocitos producidos en la médula ósea, encargadas de la defensa frente a infecciones víricas y la eliminación de células tumorales.

Citocinas: Tipo de proteína que elaboran ciertas células inmunitarias y no inmunitarias, y que tiene un efecto en el sistema inmunitario. Algunas citocinas pueden estimular la respuesta inmunitaria y otras pueden disminuirla.

Cuerpos elementales: Estructuras redondeadas diminutas infecciosas, rígidas, resistentes a la ruptura como consecuencia de los puentes disulfuro de las proteínas de la capa externa de la membrana, se liberan cuando se lisa la célula hospedera infectada, tienen un tamaño de 200 a 400 nm.

Cuerpos reticulados: son el resultado de la diferenciación de los CE al ser fagocitados, tienen una morfología bacilar, están desprovistos del nucleóide denso y su mayor tamaño es de 600 a 1000 nm.

Epididimitis: Inflamación del epidídimo, en ocasiones acompañada por inflamación de los testículos (orquiepididimitis).

Episoma: Elemento genético extracromosomal circular que se replica de manera independiente al cromosoma bacteriano que también se puede integrar al genoma de la bacteria y replicarse como parte de él.

Epítotope: Es el sitio específico de unión del antígeno o inmunógeno con el anticuerpo o receptor de una célula del sistema inmune.

Espacio periplásmico: Espacio que se encuentra entre las dos membranas (membrana plasmática y membrana externa) en las bacterias Gram negativas.

Esplenomegalia: Incremento del tamaño del bazo mayor a sus dimensiones normales.

Espondilitis anquilosante: Enfermedad reumática que causa inflamación de las articulaciones de la columna vertebral y de las sacroilíacas.

Factor tubárico: Cualquier alteración en las trompas de Falopio causada por alguna enfermedad, infecciones cérvico-vaginales, adherencia pélvica, o algún método de esterilización quirúrgica como la Salpingoclasia, afectando la permeabilidad o funcionalidad que ocurren en las trompas de Falopio.

Fagocitosis: Proceso que cumplen un tipo de células especializadas con la capacidad de ingerir partículas externas de su mismo tamaño o un poco más grandes. Es una forma

específica de endocitosis por la que las células asimilan partículas sólidas, entre las que se incluyen los patógenos microbianos.

Fisión binaria: Método de reproducción asexual a través del cual un organismo se transforma en dos nuevos organismos idénticos. Es el proceso que usan las bacterias para realizar la división celular.

Gingivoestomatitis: Se trata de la manifestación clínica más frecuente de la infección primaria por el virus herpes simple (VHS). Es una infección de la boca y las encías que lleva a que se presente hinchazón y úlceras.

Hematógena: Que se origina en la sangre o se disemina por la corriente sanguínea.

Hiperplasia: Aumento anormal de tamaño que sufre un órgano o un tejido orgánico debido al incremento del número de células normales que lo forman.

Inclusión citoplasmática: Son estructuras o materiales que se almacenan en el citoplasma.

Infección piógena: Infección que produce la acumulación de leucocitos y bacterias muertas (pus).

Leucopenia: Enfermedad y trastorno de la sangre producida por la baja producción de leucocitos o glóbulos blancos.

Leucoplasia vellosa: Es una lesión asintomática que se presenta principalmente en los bordes laterales de la lengua. Afecta las membranas mucosas de la boca. Es causado por el virus de Epstein-Barr.

Linfoma de Burkitt: Tipo de linfoma no Hodgkin, de crecimiento rápido. Es una rara forma de cáncer del sistema linfático, asociado principalmente a linfocitos B.

Monocito: Tipo de célula inmunitaria que se elabora en la médula ósea y viaja por la sangre hasta los tejidos del cuerpo; allí se convierte en macrófago. Leucocito de mayor tamaño.

Morbilidad: Índice de personas enfermas en un lugar y tiempo determinado.

Neoepítipo: Regiones de antígenos generadas por la modificación del antígeno original, a menudo por procesos patológicos.

Neutrófilo: Tipo de célula inmunitaria; es uno de los primeros tipos de células que van al sitio de una infección. Los neutrófilos ayudan a combatir infecciones porque ingieren los microorganismos y segregan enzimas que los destruyen. Un neutrófilo es un tipo de glóbulo blanco, un tipo de granulocito y un tipo de fagocito.

Oftalmía: Presencia de una secreción mucopurulenta que afecta ambos ojos, con inflamación intensa de la conjuntiva, quemosis, infiltración de la conjuntiva bulbar y párpados edematosos.

Oncogen: Es un gen que ha mutado y contribuye al desarrollo de un cáncer.

Osteoclastos: Células multinucleadas del tejido óseo. Tiene como función la reabsorción del tejido óseo a lo largo de un proceso denominado remodelación.

Plásmido críptico: Plásmido que no codifica funciones fenotípicas aparte de su propia replicación. Sólo se sabe que se replican, no se sabe qué otra función tienen.

Porina: Proteína que forma poros en la membrana externa de las bacterias gram-negativas para la penetración, por difusión pasiva, de sustratos de bajo peso molecular.

Quimiocinas: Subpoblación de citocinas que comparte el propósito específico de movilizar células inmunitarias desde un órgano, o de hecho, desde una parte de un órgano, hacia otro. Las quimiocinas pertenecen a la clase de moléculas llamadas quimioatrayentes. Es decir, son unas pequeñas proteínas secretadas por las células para movilizar y activar los glóbulos blancos que combaten la infección.

Sacroileítis: Inflamación de la articulación sacroilíaca.

Sistema fagocítico mononuclear: Es una parte del sistema inmune que consiste en las células fagocíticas ubicadas en el tejido conectivo reticular. Las células son principalmente monocitos y macrófagos. Tienen funciones comunes de fagocitosis de bacterias, virus, partículas nocivas, células viejas, etc.

Tegumento: Complejo de proteínas virales de estructura fibrilar que asegura la unión entre la envoltura y la cápside.

Tejido linfoide: Tipo de tejido conjuntivo en el que las células predominantes son los linfocitos. Es el componente principal del sistema inmunitario y está formado por varios tipos diferentes de células que trabajan juntas para combatir una infección.

Tensoactivo catiónico: Son aquellos que en solución forman iones, resultando cargado positivamente el grupo hidrófobo de la molécula.

Trombocitopenia: Es cuando hay una cantidad menor de la normal de plaquetas en el torrente sanguíneo.

Ubicuo: Que está presente en todas partes al mismo tiempo.

Uretritis no gonocócica: Infección de la uretra (un tubo que va desde la vejiga y pasa a través del pene en los hombres o de los labios vaginales en las mujeres, por el que pasa la orina), ocasionada por algún agente que no sea la gonorrea.

Uveítis: inflamación de la capa media del ojo llamada úvea, provocando enrojecimiento e hinchazón que puede causar daño al tejido vital ocular, llevando a una pérdida permanente de la visión.

Vacuola: Orgánulo celular unido a la membrana. Son pequeños compartimientos en el citoplasma de la célula, contienen químicos y enzimas que permiten degradar sustancias.

Virus benigno: Virus que causa pocos o ningún problema en el organismo.

18. Abreviaturas

ACPA – Anticuerpos frente a proteínas/péptidos citrulinados

AMEPAR – Asociación Mexicana de Familiares y Pacientes con Artritis Reumatoide

AR – Artritis Reumatoide

ARe – Artritis reactiva

ATP – Adenosíntrifosfato

BEt – Bromuro de etidio

CB – Células B

CDC – Centers of Disease Control and Prevention

CD21 – Clúster de diferenciación 21 (receptor de complemento tipo 2)

CE – Cuerpo elemental

CMV – Citomegalovirus

CP – Control Positivo

CR – Cuerpo reticulado

CTAB – Bromuro de cetiltrimetilamonio

EBER – ARN pequeños codificados por el virus de Epstein-Barr

EBNA – Antígeno nuclear de Epstein-Barr

EIP – Enfermedad inflamatoria pélvica

GAPDH – Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa

HHV – Virus del herpes humano

HLA – Antígeno Leucocitario Humano

HSP – Proteínas de choque térmico

HSPG – Proteoglicanos del heparán sulfato del huésped

HSV – Virus del herpes simplex

IL – Interleucina

IMSS – Instituto Mexicano del Seguro Social

kDa – kiloDalton

LB – Linfocitos B

LES – Lupus Eritematoso Sistémico

LGV – Linfgranuloma venéreo

LMP – Proteína latente de membrana

LPS – Lipopolisacáridos

LT – Linfocitos T

MHC – Complejo mayor de histocompatibilidad

ml – Mililitros

MOMP – Proteína principal de membrana externa

MPM – Marcador de peso molecular

Mx – Muestra

NK – Natural Killer

nm – Nanómetro

NTC – Control negativo de templado

ompA – Outermembraneprotein A

OMS – Organización mundial de la salud

PCR – Reacción en cadena de la polimerasa

RELI – Intersección del Locus del Elemento Regulador

rpm – Revoluciones por minuto

SE – Epítoto compartido

SR – Síndrome de Reiter

TGF- β – Factor de crecimiento transformante beta

Th – T helper (o colaboradoras)

TNF- α – Factor de necrosis tumoral alpha

VEB (EBV) – Virus de Epstein-Barr

VZV – Virus de varicela-zóster

μL – Microlitro