



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Programa Institucional de Doctorado en Ciencias
Biológicas



**“MECANISMOS DE REGULACIÓN ASOCIADOS A LA FORMACIÓN DE
BIOPELÍCULAS EN *Staphylococcus aureus* EN RESPUESTA A SEÑALES
INMUNOMODULADORAS DEL HOSPEDERO”**

Tesis para obtener el Grado de
Doctora en Ciencias Biológicas
Opción en Biotecnología Molecular

PRESENTA:

M.C. ADRIANA NOEMÍ ZAVALA HERNÁNDEZ

Director:

Dr. Juan José Valdez Alarcón

COMITÉ TUTORIAL:

Dra. Rosa Elvira Núñez Anita. FMVZ – UMSNH
Dr. Alejandro Bravo Patiño. FMVZ – UMSNH
Dr. Gustavo Santoyo Pizano. IIQB – UMSNH
Dr. Ramón Ignacio Arteaga Garibay - INIFAP

Morelia, Michoacán. Enero de 2026.

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA

Con el apoyo del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) becario No. 765466. Este trabajo fue apoyado en parte por CONAHCYT con el proyecto número A1-S-33020 y un proyecto de la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo a Juan José Valdez Alarcón, quien agradece al Dr. J.A. Bustos-Martínez quién dono la cepa de *S. aureus* USA 300; así también se brinda el reconocimiento por contribuir con la investigación a **Christian Salto Reyes**, Lucero Armenta-Reyes, Roxana Ayala-Ruiz, Aneth Ocegueda-Vega, Arturo Arias como asistentes técnicos en los experimentos de la cuantificación de la formación de biopelículas. **Gracias a la mesa de sinodales**, por sus contribuciones en pro de la mejora de este proyecto; agradezco en especial al **Dr. Juan José**, por ser mi guía, mentor y amigo. Este proyecto fue el producto de mi dedicación y empeño; sin embargo, sin la ayuda de mi familia, hubiera sido aún más complicado. **Papás**, les agradezco la vida, la educación, el apoyo y por haberme formado con disciplina; sin su ayuda, sus consejos, tal vez, hubiera desfallecido sin lograrlo. Gracias, a mi niño **Iker Rafael**, por tu paciencia, tolerancia, por esas tardes, donde anhelabas que mamá estuviera. Agradezco a Paty, Alba, Fermín, Marco, a todas aquellas personas que en algún momento me ayudaron, para cumplir mi sueño. A mis compañeros del CMEB, sólo les puedo agradecer sus consejos, apoyo y demás experiencias en el laboratorio; aquellos con los que cultivé una amistad, los llevaré dentro de mi corazón por siempre. Amigo “estrellita”, gracias por todo. Dedicada en especial a ti, **Tomas Rentería Zavala †**

CONTENIDO

CONTENIDO	iii
ABREVIATURAS	v
I. RESUMEN GENERAL	9
II. ABSTRACT	10
III. INTRODUCCIÓN GENERAL	11
3.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	11
3.2 Patogénesis de <i>S. aureus</i>	13
3.3 Regulación de la virulencia	15
3.3.1 Sistema regulador Agr	17
3.3.2 Regulador transcripcional SarA	19
3.3.3 Factor sigma B (SigB)	20
3.3.4 Sistema SaeRS	21
3.4 Biopelículas	23
3.4.1 Formación de biopelículas	23
3.4.2 Red reguladora de las biopelículas en <i>S. aureus</i>	24
3.4.3 <i>S. aureus</i> en interacción en el sistema inmune humano	25
3.5 Las citocinas como señal de comunicación interreinos	27
3.6 Interacción de <i>S. aureus</i> con el sistema inmune	27
3.6.1 Factor de necrosis tumoral α	28
3.6.2 Interleucina β	29
3.6.3 Interleucina 10	29
IV. PLANTEAMIENTO DE HIPÓTESIS	31
V. OBJETIVOS	32
5.1 General	32
5.2 Particulares	32
VI RESULTADOS	33
6. 1 CAPITULO I	33
6. 2 CAPITULO II	36
VII DISCUSIÓN GENERAL	38
VIII CONCLUSIÓN GENERAL	42

IX	PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES.....	43
X.	BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA.....	44

TABLAS

Tabla 1	Reguladores de biopelículas estafilocócicas	24
----------------	--	-----------

FIGURAS

Figura 1.	Red reguladora de factores de virulencia	15
Figura 2.	Sistema de detección de quorum de <i>Staphylococcus</i>.....	16
Figura 3.	Red reguladora de <i>S. aureus</i>. Interacción del <i>ARNIII</i>.....	18
Figura 4.	La producción de biopelículas en <i>S. aureus</i>.....	26

ABREVIATURAS

ADNe	Ácidos desoxirribonucleicos extracelulares.
Agr	Sistema de regulación accesorio.
<i>agrA</i>	Gen del regulador de respuesta citoplásmico A.
AgrB	Endopeptidasa transmembranal del sistema Agr.
AgrC	Histidina cinasa transmembranal del sistema Agr.
AgrD	Gen del precursor del AIP.
AIPs	Péptidos autoinductores.
<i>alsS</i>	Codifica a la acetolactato sintasa.
AMP	Péptidos antimicrobianos.
ANOVA	Análisis de varianza.
ArlRS	Sistema regulador de virulencia, adhesión y biopelículas de dos componentes.
ARNe	Ácido ribonucleico extracelular.
<i>arnIII</i>	ARN regulador, efector principal del sistema regulador Agr.
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero.
ARNP	ARN polimerasa.
Asp51	Asparagina cincuenta y uno.
Aur	Aureolisina.
<i>bap</i>	Proteína asociada a biopelículas.
bp	Pares de bases.
C3	Proteína tipo tres, donde convergen las tres vías del complemento.
C3B	Escisión de la opsonina C3 del complemento.
CcpA	Proteína para el control catabólico.
c-di-AMP	Di adenosina monofosfato cíclico.
<i>cidABC</i>	Operón del sistema de autólisis (mureína hidrolasa).
ClfA	Factor A de agregación.
<i>cna</i>	Codifica a la adhesina para colágeno.
<i>coA</i>	Gen de la coagulasa.
CodY	Regulador transcripcional global en respuesta a disponibilidad de nutrientes.
CT-1	Cardiotrofina 1, leucina de la familia IL-6.
CWA	Proteínas de pared celular.
DHEA	Dehidroepiandrosterona.
<i>eap</i>	Gen de la proteína de adherencia extracelular.
EaP	Proteína de adherencia extracelular.
EPS	Sustancias poliméricas extracelulares.
Fab	Fragmento de unión al antígeno.
<i>fbn</i>	Gen de la proteína de unión a fibronectina.
Fc	Fracción cristalizante de la inmunoglobulina.
<i>flipR</i>	Codifica al inhibidor del receptor del péptido formilo en neutrófilos.
FnBPA	Proteína A de unión a fibronectina.
FnBPB	Adhesina B transportadora de fibronectina.
<i>gdpP</i>	Codifica una fosfodiesterasa.

<i>gyrA</i>	Gen de la girasa A.
h	Hora.
HDR	Respuesta de defensa del huésped.
His-131	Histidina en la posición ciento treinta y uno.
<i>Hla</i>	Gen de hemolisina alfa.
<i>hld</i>	Gen de hemolisina delta.
HlgAB	Hemolisina gama tipo A y B.
<i>hlgABC</i>	Genes de las hemolisinas A, B y C.
Hly	Hemolisina gama.
HNPs	Péptidos de neutrófilos humanos.
IcaA	Proteína de membrana que polimeriza N-glucosamina.
IcaR	Regulador transcripcional del operón <i>ica</i> .
IFN	Interferón.
IgG	Inmunoglobulina G.
IgM	Inmunoglobulina M.
IL-11	Interleucina once.
IL-12	Interleucina doce.
IL-18	Interleucina dieciocho.
IL-19	Interleucina diecinueve.
IL-1R2(P68)	Receptor para la interleucina 1, peso molecular de 68 kDa.
IL-1ra	Antagonista del receptor de la interleucina uno.
IL-1 α	Interleucina uno alfa.
IL-1 β	Interleucina uno beta.
IL-2	Interleucina dos.
IL-20	Interleucina veinte.
IL-22	Interleucina veintidós.
IL-23	Interleucina veintitrés.
IL-24	Interleucina veinticuatro.
IL-27	Interleucina veintisiete.
IL-30	Interleucina treinta.
IL-31	Interleucina treinta.
IL-33	Interleucina treinta y tres.
IL-36 α	Interleucina treinta y seis alfa.
IL-6	Interleucina seis.
IL-8	Interleucina ocho.
IL-Y	Interleucina gama.
INF γ	Interferón gama.
Kb	Kilobase.
KDa	Kilodaltones.
LIF	Factor inhibidor de la leucemia.
<i>lrg</i>	Codifica el regulador de la muramidasa.
LrgA	Antiholina.
<i>lukABGHE</i>	Operón de leucocidinas.
<i>lukF</i>	Codifica la leucocidina F
<i>lytM</i>	Gen de la autolisina.
LytSR	Sistema regulador de dos componentes que libera de ADN.
<i>mecA</i>	Gen de proteína de unión a meticilina.

MgrA	Regulador de la agregación, virulencia y proteínas de superficie.
MHC	Complejo de histocompatibilidad mayor.
ml	Mililitros.
MrpF	Factor de resistencia a múltiples péptidos.
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina.
MSCRAMMs	Componentes de la superficie microbiana que reconoce patrones de moléculas de la matriz adhesiva.
MSSA	<i>Staphylococcus aureus</i> sensible a meticilina.
NET's	Trampas extracelulares de los neutrófilos.
NFK-B	Factor nuclear Kappa B.
ng	Nanogramos.
NK	Células asesinas naturales.
NOD	Proteína intracelular receptora de patógenos del sistema inmune innato.
<i>nuc</i>	Gen de la nucleasa.
OatA	Orto-acetilasa de peptidoglucanos.
OmpR	Regulador de respuesta.
OSM	Oncostatina M.
P1-3	Regiones promotoras (uno, dos, tres).
p55	Receptor 1 del factor de necrosis tumoral.
p75	Receptor de neurotrofina.
PAMPs	Patrones moleculares asociados a patógenos.
PBP-2a	Proteína de unión a penicilina dos a
PBS	Solución amortiguadora a base de fosfatos.
pH	Potencial de hidrógeno.
PIA	Polisacáridos de adhesión intercelular.
PMN	Leucocitos polimorfonucleares.
PNAG	n-Acetil glucosamina.
pro-IL-1 α	Forma precursora inactiva de interleucina uno alfa
Pro-IL-1 β	Precursor inactivo de la interleucina uno beta.
PRR'S	Receptores de reconocimiento de patógenos.
PSMs	Modulinas solubles en fenol.
PVL	Leucocidina Panton-Valentin.
QS	Sistema de detección poblacional.
ROS	Especies reactivas de oxígeno.
Rot	Represor de toxinas.
RsaA	ARN represor tipo A.
RsaD	ARN regulador postranscripcional tipo D.
<i>rsbU</i>	Gen del activador del factor sigma B.
<i>rsbV</i>	Codifica al factor anti-anti-sigma.
<i>rsbW</i>	Gen de la proteína del factor anti-sigma.
RT-PCR	Retrotranscriptasa Inversa-Reacción en Cadena de la Polimerasa.
<i>saeP</i>	Gen de la lipoproteína sensor del sistema SaeRS.
<i>saeQ</i>	Codifica a una proteína transmembranal de TCS.
SaeR	Regulador transcripcional del sistema de dos componentes.

SaeRS	Reguladores de factores de virulencia.
SarA	Proteína reguladora accesorio estafilococal A.
SarB	Regulador accesorio estafilococal B.
SarC	Regulador accesorio estafilococal C.
SarT	Represor de SarU.
SarU	Activador del sistema de detección de densidad poblacional.
SarV	Proteína reguladora transcripcional de la familia Sar.
Sbi	Proteína de unión a inmunoglobulinas.
SBS	Sitios de unión al ribosoma.
SCC-IV	Casete estafilococal cromosómico tipo cuatro.
SCCmec	Casete cromosómico móvil.
<i>sdrC</i>	Gen de la proteína de adhesión a la superficie.
SigA (σ^a)	Subunidad sigma A de ARN polimerasa.
SigB	Factor sigma alternativo B en condiciones de estrés.
SigH	Subunidad de la polimerasa para genes de competencia.
SigS	Sigma que regula genes asociado a condiciones de temperaturas altas.
SpA	Proteína de superficie A.
SplAF	Proteínas homologas a serina proteasas
SprY	ARN regulador del ARNIII.
<i>srbV</i>	Gen de la proteína reguladora anti-sigma.
SrrAB	TCS de respuesta respiratoria estafilocócica, virulencia, estrés.
<i>ssaA</i>	Codifica la proteína de unión a fibronectina y colágeno.
SspA	Serina proteasa, conocida como proteasa V8.
SspB	Estafopaina B, cisteína proteasa.
SsrAB	Regulador global de virulencia en condiciones de estrés.
TBS	Solución búfer a base de tris (hidroximetil)aminometano.
TCS	Sistema regulador de dos componentes.
TDHA	Trastorno de déficit de atención con hiperactividad.
TF	Factor transcripcional.
TFs	Factores transcripcionales.
Th1	Linfocitos T cooperadoras uno.
Th17	Células T colaboradoras tipo diecisiete.
TLR	Receptor tipo Toll, proteína del sistema inmune.
TNF	Factor de necrosis tumoral.
TNFR-I	Receptor 1 del factor de necrosis tumoral.
TNFR-II	Receptor 2 transmembranal del factor de necrosis tumoral.
TNFSF1	Factor de necrosis tumoral de la superfamilia uno.
TNFSF18	Factor de necrosis tumoral de la superfamilia dieciocho.
TNF α	Factor de necrosis tumoral alfa.
TNF β	Factor de necrosis tumoral beta.
TSST1	Toxina de síndrome de shock tóxico.
UFC	Unidades formadoras de colonias.
WTA	Ácidos teicoicos de pared celular.
$\Delta\Delta$ CT	Doble delta del ciclo umbral.
° C	Grados Celsius.

I. RESUMEN GENERAL

Staphylococcus aureus, al desarrollar infecciones, se encuentra expuesto a moléculas de señalización del hospedero; entre ellas se incluyen hormonas, citocinas, quimiocinas del sistema inmune, así como sustancias secretadas por la microbiota que coexiste en el nicho humano. *S. aureus*, al infectar, causa inflamación y estimula la secreción de señales del sistema inmunológico, que son las primeras moléculas a las que se encuentra expuesto. Estas señales se perciben desde las biopelículas adheridas a los tejidos infectados e incluso antes de su formación. En este trabajo se analizó si *S. aureus* responde a señales inmunomoduladoras como las citocinas TNF α , IL-1 β o IL-10, mediante la determinación de la viabilidad celular y la estructura de las biopelículas *in vitro* en cepas de *S. aureus* ATCC 27543 y USA 300. Así mismo, se evaluaron los niveles de expresión de los reguladores globales de la expresión (*agrA*, *arnIII*, *saeR*, *sarA*, *sigB*) involucrados en el control de la virulencia de la bacteria. Todas las citocinas utilizadas redujeron la viabilidad bacteriana tanto de la fase sésil como planctónica de una manera dependiente de la dosis, en concentraciones entre 0,1-100 ng/ml. También generaron cambios estructurales específicos de cada citocina en las biopelículas, principalmente en el grosor, la proporción de células muertas y la presencia de canales. Bajo el efecto de IL-1 β , los niveles de expresión de *agrA*, *saeR*, *sigB* disminuyeron; la expresión de *arnIII* aumentó, en cambio, la transcripción de *sarA* no presentó cambios respecto a *gyrA*. Ante TNF α , los niveles de expresión de todos los genes analizados se incrementaron; sin embargo, sólo *arnIII* y *sigB* presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a *gyrA*. Con IL-10, se incrementaron los genes del sistema Agr (*agrA* y *arnIII*), mientras que *saeR* y *sarA* mostraron un nivel de expresión basal; por el contrario, *sigB* disminuyó su expresión considerablemente, en comparación con el nivel de expresión de *gyrA*. Las respuestas diferenciales para cada citocina y cepa sugieren la presencia de receptores específicos y/o rutas de transducción de señales particulares. Con base en la información reportada en la literatura, se diseñó un modelo del posible mecanismo de interacción entre los reguladores globales analizados en este trabajo. La respuesta de *S. aureus* ante las señales del hospedero es importancia para dilucidar los mecanismos de regulación de la formación de biopelículas y diseñar estrategias que permitan controlar o evitar infecciones por dicha bacteria.

Palabras: Virulencia, patogenicidad, TNF α , IL-1 β , IL-10.

II. ABSTRACT

During infection, *Staphylococcus aureus* is exposed to a wide range of host-derived signaling molecules, including hormones, cytokines, and chemokines of the immune system, as well as other substances secreted by the microbiota that coexist in the human niche. Infection by *S. aureus* triggers inflammation and the rapid release of immune mediators, which represent the first host signals encountered by the bacterium. These signals are perceived from biofilms attached to infected tissues, even before *S. aureus* responds to immunomodulatory host signals such as the cytokines TNF α and IL-1 β or IL-10, by determining cell viability and biofilm structure *in vitro* in *S. aureus* strain ATCC 27543 and USA 300 that share a similar genetic background, as well as evaluating the expression levels of global regulators of expression (*agrA*, *malIII*, *saeR*, *sarA*, *sigB*) involved in the control of bacterial virulence. All cytokines reduced bacterial viability in both the sessile and planktonic phases in a dose-dependent manner at concentrations ranging from 0,1-100 ng/ml. They also induced cytokine-specific structural changes in the biofilms, primarily in the thickness, the proportion of dead cells, and the presence of channels. Under the effect of IL-1 β , the expression levels of *agrA*, *saeR*, and *sigB* decreased; the expression of *malIII* increased; however, the transcription of *sarA* remained unchanged, as did that of *gyrA*. In response to TNF α , the expression levels of all analyzed genes increased; however, only *malIII* and *sigB* showed statistically significant differences compared to the reference gene. In contrast, IL-10 increased the expression of genes in the Agr system (*agrA* and *rIII*). *saeR* and *sarA* showed basal expression levels. *sigB* expression, on the other hand, decreased considerably compared to *gyrA*. The differential response for each cytokine and strain suggests the presence of a specific receptor for each cytokine and/or, perhaps, specific signal transduction pathways. Based on information reported in the literature, a model of the possible interaction mechanism between the global regulators analyzed in this work was designed to study the response of *S. aureus* to host signals is of utmost importance to elucidate the regulatory mechanisms of biofilm formation and to design strategies to control or prevent infections by this bacterium.

III. INTRODUCCIÓN GENERAL

El desarrollo de una enfermedad infecciosa depende tanto de la expresión de factores de virulencia de las bacterias como de la respuesta inmunológica del hospedero y de las condiciones ambientales (Jenul y Horswill, 2019). Con respecto al primer punto, se han realizado múltiples investigaciones para mejorar la comprensión de la patogénesis de diversas bacterias, que afectan tanto a los humanos como a los animales. A pesar de las investigaciones realizadas, para intentar disminuir la frecuencia de casos presentes en todo el mundo, la carga de las infecciones por bacterias como *Staphylococcus aureus* sigue en aumento, quizá el éxito de esta bacteria se debe a que puede permanecer entre el 15–30 % de población, como parte de los microorganismos comensales en la piel, axilas, garganta, sin ocasionar enfermedades; el 70 % restante, al menos han sido colonizados de forma intermitente y cuando el sistema inmunológico del hospedero se ve comprometido o reprimido, esta bacteria se vuelve un patógeno oportunista y coloniza a su hospedero para producir infecciones desde leves, agudas, crónicas y persistentes (Howden *et al.*, 2023).

3.1 *Staphylococcus aureus*

S. aureus fue descubierto en 1880 por el cirujano Alexander Ogston (nacido en Escocia, Reino Unido), al observar un absceso de un paciente al microscopio, encontró que el pus producido en las heridas quirúrgicas era generado por esta bacteria, introduciendo el término *Staphylococcus*, del griego “staphylo”, que significa racimo de uvas (Pasachova *et al.*, 2019). Esta especie bacteriana presenta morfología cocoide y forma aglomeraciones, las colonias son de un tono amarillo-dorado, del cual deriva su nombre específico, “*aureus*”.

Los estafilococos son un amplio grupo de bacterias Gram-positivas, cuyo diámetro oscila entre 0.5 y 1.5 micras agrupados como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas (Zendejas *et al.*, 2014). Son bacterias inmóviles, no esporuladas, normalmente sin cápsula, aunque existen cepas que desarrollan una cápsula (Bronner *et al.*, 2004). *S. aureus* tiene una gran capacidad de adaptación, debido a que afecta a todas las especies conocidas de mamíferos, pudiendo transmitirse de una

especie a otra, siendo frecuentes los casos de tipo zoonosis (Howden *et al.*, 2023). De aquí surge la importancia de su estudio puesto que, además de los animales, los mecanismos de invasión también abarcan fómites y el contacto de persona a persona (Zendejas *et al.*, 2014).

De acuerdo con la tinción de Gram, se considera positiva, presenta la capacidad de tolerar concentraciones considerables de soluto, por lo que se considera un osmotolerante. Además, es un microorganismo aerobio o anaerobio facultativo a temperaturas entre 18 y 40 °C (Taylor y Unakal, 2024).

Para su identificación mediante pruebas bioquímicas, se incluyen: la de catalasa, coagulasa, la fermentación de manitol, las cuales son positivas (Bautista-Trujillo *et al.*, 2013).

S. aureus es una de las especies más virulentas, ya que pese a ser un microorganismo transitorio comensal y patógeno oportunista, induce alteraciones en los tejidos y produce lesiones localizadas con supuración y cicatrización, es responsable tanto de infecciones de la piel y tejidos blandos hasta infecciones graves que amenazan con la vida (endocarditis, sepsis, osteomielitis) (Touaitia *et al.*, 2025). El impacto de las cepas de *S. aureus* sobre la salud es la resistencia que pueden presentar a múltiples antibióticos, sobre todo a la meticilina (MRSA), cuya aparición y propagación han hecho que el manejo y la terapia efectivos de estas infecciones sean cada vez más problemáticos (Gao *et al.*, 2022).

Algunas cepas de *S. aureus* portan el casete *SCCmec* en el cromosoma bacteriano, el cual codifica para la proteína PBP-2a que se une a la penicilina, cataliza la producción de peptidoglicanos, por lo que PBP-2a cataliza la síntesis de la pared celular bacteriana incluso en presencia de muchos antibióticos. El casete *SCCmec* presenta polimorfismos estructurales que son útiles para la genotipificación de *S. aureus* (Oliveira y de Lencastre, 2002).

Actualmente se conocen 14 tipos diferentes de casete *SCCmec* (Uehara, 2022). Como resultado de la transferencia horizontal de genes, existen cepas de *S. aureus* resistentes a múltiples antibióticos, entre ellos macrólidos, tetraciclinas, fluoroquinolonas,

β -láctamicos, por ejemplo: ampicilina, meticilina, nafcilina, oxacilina; cefalosporinas y vancomicina, entre otros (Kasela *et al.*, 2023; Taylor y Unakal, 2024; Guo *et al.*, 2022).

3.2 Patogénesis de *S. aureus*

La patogenicidad de *S. aureus* se debe principalmente a su repertorio de factores de virulencia específicos y genes de resistencia antimicrobiana (Constanza *et al.*, 2017). Asimismo, para adaptarse a los diferentes nichos ecológicos del hospedero, es capaz de controlar su expresión génica, en particular a través del locus *agr* (gen regulador accesorio), que codifica un sistema de detección de *quórum* y en respuesta a la señalización célula-célula, da lugar a la formación de biopelículas (Jenul y Horswill, 2019; Ramond *et al.*, 2022). Las biopelículas son comunidades microbianas que se mantienen unidas a una superficie, rodeadas por una matriz extracelular constituida generalmente por exopolisacáridos, proteínas y ADN o ARN extracelular. El papel de la biopelícula autoproducida o sustancia polimérica extracelular (EPS), que tiene la finalidad de proteger a las células de factores ambientales nocivos, incluidos los antibióticos y el sistema inmunitario del huésped (Schilcher y Horswill, 2020). En condiciones intrahospitalarias, las biopelículas han adquirido gran relevancia, ya que colonizan dispositivos médicos incluidos implantes, catéteres, y también infecciones persistentes y sepsis (Hochbaum *et al.*, 2011; Ortega y Hernández, 2018; Kamble y Pardesi, 2021).

S. aureus es uno de los principales agentes causales de infecciones tanto en humanos como en animales en todo el mundo (Kasela *et al.*, 2023). Este microorganismo ocasiona infecciones de piel y tejidos blandos, impétigo, toxina de síndrome de shock tóxico (TSST1), neumonía, endocarditis, rinosinusitis, enfermedades autoinmunes (lupus eritematoso), septicemia, bacteriemia (Peng *et al.*, 2022; Guo *et al.*, 2022; Idrees *et al.*, 2021; Nasser *et al.*, 2019). En bovinos produce la mastitis bovina, la cual es una de las enfermedades más importantes que afectan a la industria láctea, debido al deterioro de la calidad de la leche, que provoca pérdidas económicas a los productores. La mastitis bovina es la inflamación de la ubre, causada por bacterias de diferentes géneros: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, entre otras (Marsilio *et al.*, 2018). *S. aureus* es una de las principales bacterias causantes de mastitis subclínicas

y clínicas, crónicas o recurrentes en las vacas lecheras (Gianneechini *et al.*, 2002). Cuando *S. aureus* desarrolla una infección en la glándula mamaria bovina, los mecanismos de respuesta del sistema inmune innato del hospedero se activan; sin embargo, la bacteria tiene la capacidad de evadir el sistema inmune e interactuar con diferentes tipos celulares. Una vez infiltradas en el canal de la ubre, las bacterias se multiplican y producen toxinas que causan la destrucción del tejido mamario, disminuyendo el potencial productivo de la ubre (Marsilio *et al.*, 2018). La eficacia de la curación es baja y no existe terapia efectiva para eliminar por completo la infección de los cuartos mamarios infectados, otro aspecto a considerar es la habilidad de *S. aureus* para evadir la respuesta inmune del hospedero y sobrevivir dentro de diferentes tipos celulares de la glándula mamaria (GM) por un largo periodo sin causar una inflamación clínica (Pereyra *et al.*, 2014). Varios factores incluidos los factores asociados a la pared celular como ácidos teicoicos glicosilados, factores de agregación (coagulación) y receptores de células epiteliales facilitan la adhesión a las fosas nasales anteriores, que pueden ser detectados por receptores tipo TLR 2 o 9, así como NODs, para desarrollar un proceso inflamatorio, sin embargo, esta bacteria es capaz de producir diversas proteínas, enzimas y factores de virulencia que le permiten evadir los mecanismos de defensa del sistema inmunológico (Cheung *et al.*, 2021; Nasser *et al.*, 2019). El contacto con los animales infectados aumenta la propagación; además, el uso excesivo y descontrolado de antibióticos puede promover resistencia en las bacterias, lo que podría ocasionar la pérdida de los animales (Pereyra *et al.*, 2014). Investigar los mecanismos de interacción de *S. aureus* con el sistema inmune del hospedero permitirá identificar blancos para diseñar nuevas alternativas preventivas o curativas, que ayuden a evitar, disminuir o eliminar infecciones causadas por este microorganismo.

La virulencia de *S. aureus* es un proceso complejo y multifactorial producto de factores expresados coordinadamente durante las diferentes fases, como la colonización, evasión de las defensas del hospedero, multiplicidad y diseminación bacteriana (Kasela *et al.*, 2023; Nasser *et al.*, 2019). En el proceso infeccioso, los factores de la pared celular bacteriana y los receptores de las células epiteliales, facilitan la adhesión y la colonización de *S. aureus*, mediante enzimas, toxinas y estrategias para evadir el sistema inmunitario, estas enzimas lisan los componentes celulares, evaden el sistema inmunitario a través

de antígenos de superficie como la SpA y proteínas de unión a inmunoglobulinas (Sbi) (Nasser *et al.*, 2019).

Las estrategias de esta bacteria se pueden dividir en cinco grupos: a) Inhibir la extravasación, activación y quimiotaxis de neutrófilos; b) Evitar la fagocitosis, por agregación en estructuras de superficie, y formación de biopelículas; c) Inhibir la eliminación por especies reactivas de oxígeno (ROS); d) Destrucción de neutrófilos mediante toxinas y e) La inactivación de los péptidos antimicrobianos por degradación proteolítica (Cheung *et al.*, 2021; Nasser *et al.*, 2019). Sin embargo, esta bacteria se adapta a las condiciones adversas del entorno para sobrevivir y permanecer en diferentes nichos ambientales. *S. aureus* ha desarrollado una red reguladora para controlar la producción de factores de virulencia (Cheung *et al.*, 2021), conocidos como genes accesorios (Peng *et al.*, 2022; Jenul y Horswill, 2019).

El mecanismo de detección del quórum (*quorum* sensing) regula la expresión de genes asociados a la virulencia en bacterias, por lo que sería un punto importante para el diseño de nuevos métodos terapéuticos.

3.3 Regulación de la virulencia

Los reguladores de virulencia más estudiados en *S. aureus* son los sistemas de dos componentes o reguladores transcripcionales, Agr, SaeRS, ArlSR, SrrAB, Rot, MgrA, CodY y LytRS (Fig. 1) (Tan *et al.*, 2018; Schilcher y Horswill, 2020; Idrees *et al.*, 2021; Peng *et al.*, 2022; Menard *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2023).

La expresión de estos reguladores varía entre genotipos; se ha comparado el genoma y la función en las cepas de *S. aureus* 502 y USA 300, cepa epidémica actual, proporcionando información sobre las diferencias en su grado de invasión e inmunogenicidad (Rasigade y Vandenesch, 2014).

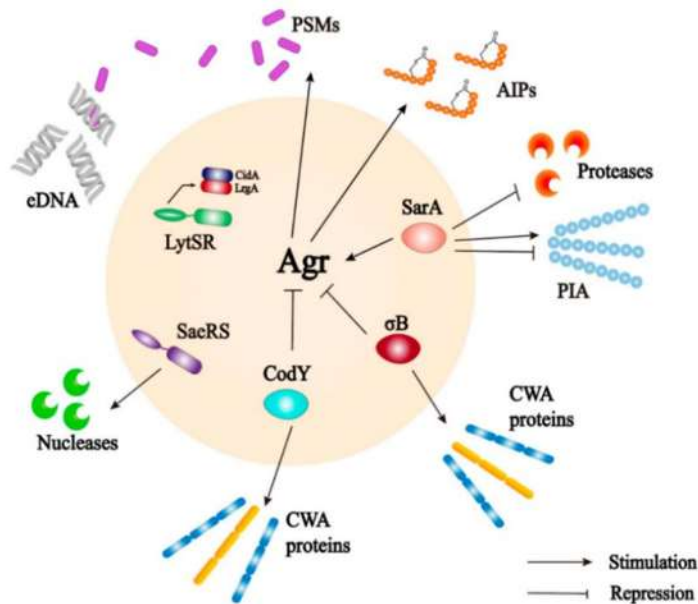


Figura 1. Red reguladora de factores de virulencia (Tomada de Peng *et al.*, 2022), interconexión del sistema Agr con otros sistemas regulatorios.

Los genes del sistema Agr de *S. aureus* están codificados en un *locus* de 3.5 kb. El *locus* consta de dos unidades transcripcionales divergentes (ARNII y ARNIII), reguladas por dos promotores P2 y P3, respectivamente (Fig. 2). La transcripción de ARNII contiene los genes *agrBDCA*, que codifican las proteínas para la biosíntesis, el transporte, la percepción de señales y los reguladores de los genes que modulan.

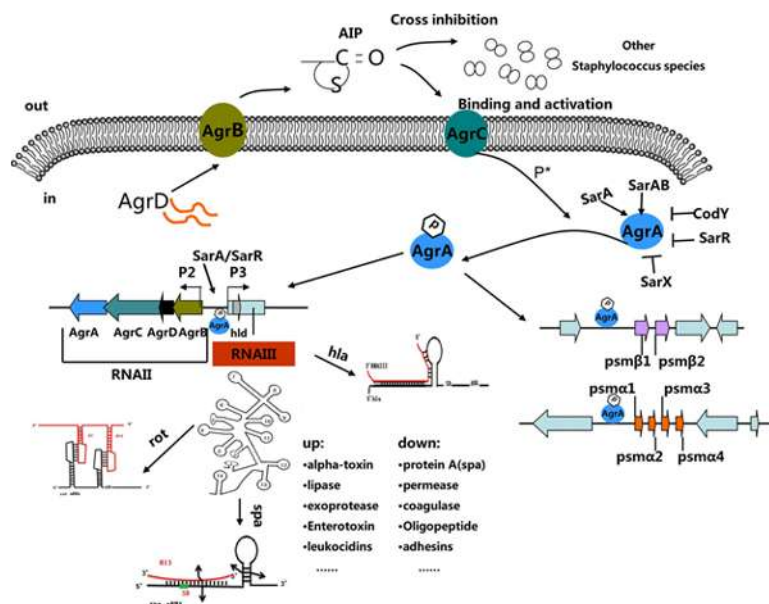


Figura 2. Sistema de detección de quorum de *Staphylococcus*. (Imagen tomada de Tan *et al.*, 2018).

3.3.1 Sistema regulador Agr

La cascada de señalización comienza con la transcripción y traducción de AgrD, el propéptido precursor de 46 aminoácidos que origina la señal de quórum. AgrD se secreta y se modifica posterior a la traducción, para dar origen al péptido autoinductor cíclico. AgrB, es una endopeptidasa insertada en la membrana, que con la peptidasa señal de tipo I SpsB, que corta en el carboxilo terminal de la cisteína y genera modificaciones para producir el anillo de tiolactona y transportar el péptido autoinductor (AIP) al exterior de la célula (Kavanaugh *et al.*, 2007; Tan *et al.*, 2018).

Los AIP varían en número y residuos de aminoácidos dependiendo del tipo de sistema Agr, 7 aminoácidos (Tipo III), 8 aminoácidos (Tipo I y IV) y 9 aminoácidos (Tipo II) (Jenul y Horswill, 2019). Cuando la concentración de AIP en el exterior se acumula, los AIP se unen al receptor específico que tiene una actividad de histidina quinasa transmembranal (AgrC), lo que provoca una autofosforilación e inicia la cascada de transducción de señales en el citoplasma (Novick y Geisinger, 2008; Tan *et al.*, 2018).

AgrC fosforila al regulador transcripcional de respuesta AgrA, que, a su vez, induce la expresión de *arnIII* a partir del promotor P3 (Novick y Geisinger, 2008; Schilcher y Horswill, 2020). ARNIII es un ARN regulador, que es el principal efector del sistema QS, que controla de forma positiva la expresión de proteínas secretadas, como toxinas y exoenzimas, además de reprimir varios genes que codifican proteínas de adhesión asociadas a la superficie (Schilcher y Horswill, 2020; Cheung *et al.*, 2021). El incremento del ARNIII reprime la traducción del represor de toxinas (Rot) (Mootz *et al.*, 2013; Menard *et al.*, 2022), que es uno de los reguladores de QS. Aunque la mayoría de los genes controlados por QS están regulados por ARNIII, algunos son regulados directamente por AgrA. El segundo promotor del transcrito ARNII es reconocido por el regulador de respuesta (AgrA) que provoca un incremento en la producción del AIP y un proceso de retroalimentación positiva (Schilcher y Horswill, 2020). Además, los transcritos de los genes de *psm-α* y *psm-β* en *S. aureus* y *S. epidermidis* están directamente regulados por AgrA (Le *et al.*, 2014; Schilcher y Horswill, 2020) así como el gen *hld*, que codifica para la toxina-δ, ubicado dentro del marco de lectura abierto en sentido inverso del *arnIII* (Schilcher y Horswill, 2020; Menard *et al.*, 2022). El locus *agr* se ha utilizado para la

caracterización molecular de *S. aureus* debido al polimorfismo de la región hipervariable comprendida entre el extremo 3' del gen *agrB* y el 5' del gen *agrC* (Gilot *et al.*, 2002). Esta variación se asocia a la fisiopatología de la infección, a la estructura de las proteínas autoinductoras (AIPs) (Thoendel *et al.* 2011) y a la inhibición cruzada por las isoformas de los AIP heterólogos entre genotipos del locus *agr* (Fig. 2) (Tan *et al.*, 2018). Hasta el momento se han caracterizado cuatro variantes del locus *agr*, cada una con un AIP característico y específico (Thoendel *et al.* 2011). El sistema Agr puede ser activado por SarA, SarV, SsrAB y factores ambientales como pH y la concentración de AIP (Le *et al.*, 2014). La producción de RNAIII inhibe proteínas de unión a superficie como la proteína A, al unirse al transcrito de la proteína A y favorecer la digestión ribonucleasa III, que, a su vez, acelera la degradación del ARNm de *spa* y limita la traducción de la proteína A. Por el contrario, la unión de RNAIII al ARN mensajero de la hemolisina- α (*hla*) permite que el ARNm libere la secuencia Shine–Dalgarno y aumenta la producción de hemolisina alfa, además de impedir la traducción del represor de toxinas Rot, que es un regulador de la familia (Sar). Rot activa enterotoxinas, toxinas- α , leucocidinas y reprimen proteínas de unión a la superficie (Morrison *et al.*, 2012; Le *et al.*, 2014; Menard *et al.*, 2022). La regulación de la virulencia es multifactorial (Figura 3) y el descubrimiento de los ARN reguladores ha permitido entender los mecanismos de virulencia y la fisiología de *S. aureus* para adaptarse a las señales ambientales presentes en el hospedero (Barrientos *et al.*, 2021).

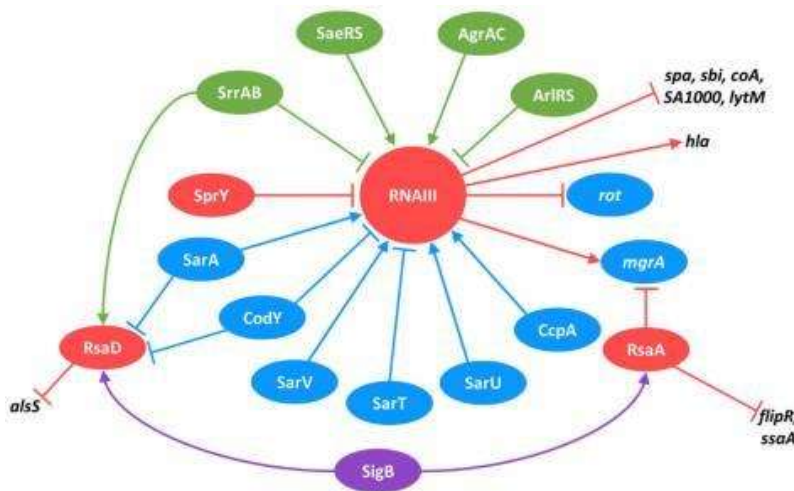


Figura 3. Red reguladora de *Staphylococcus aureus*. Interacción de RNAIII con otros ARNs de factores de virulencia; sistemas de dos componentes; TF y factores sigma (Imagen tomada de Menard *et al.*, 2022).

3.3.2 Regulador transcripcional SarA

SarA es una proteína de 14.7 kDa que se une al ADN para regular la expresión de factores de virulencia (Morrison *et al.*, 2012; Oriol *et al.*, 2021). La expresión de *sarA* depende de la fase de crecimiento. El locus *sarA* comprende una región de ADN de 1.2 kb que produce tres transcritos superpuestos (*sarB*, *sarC* y *sarA*). El promotor P3 tiene una secuencia similar a los promotores dependientes de Sigma B (SigB) en respuesta al estrés, con un promotor -10 (GGGTAT) (Reyes *et al.*, 2011). La transcripción del promotor 1 (P1), promotor 2 (P2) de *sarA*, contiene secuencias específicas para sigma A (σ^a). El P1 dependiente de σ^a permite la expresión de *sarA* durante todas las fases de crecimiento y P2 de la fase de crecimiento (exponencial media) y promotor P3 (P3) durante la fase exponencial tardía y estacionaria o durante el estrés ambiental (Morrison *et al.*, 2012). *SarA* y *sarB* se transcriben principalmente durante la fase de crecimiento exponencial, mientras que el *sarC* se expresa durante la fase estacionaria. Se ha propuesto que SarA se une a una región de 26 pares de bases (bp) llamada caja SarA (Chien *et al.*, 1999). Así mismo, las investigaciones recientes han sugerido que SarA es una proteína similar a una histona, con una función de alterar la topología del ADN y, en consecuencia, de la accesibilidad a la región promotora (Morrison *et al.*, 2012). Una delección en el gen *sarA* produjo una proteína incapaz de unirse a 341 regiones en diferentes genes (Oriol *et al.*, 2021). Se ha identificado que SarA regula múltiples genes de virulencia de manera pleiotrópica, a través de otros loci (*rot*, *agr*, *sarS*, *sarV* y *sarT*) (Oriol *et al.*, 2021; Schilcher y Horswill, 2020). SarA se ha caracterizado como un regulador transcripcional de factores de virulencia que pueden unirse a las regiones promotoras de genes como: *hla*, *hliB*, *hly*, *fbn*, *bap*, *icaAR*, *ssp*, *aur*, *coa*, *spa*, *cna*, etc. (Morrison *et al.*, 2012; Oriol *et al.*, 2021). El regulador SarA es una proteína que se une al promotor *agr*, para estimular la transcripción de *arnIII* (Schilcher y Horswill, 2020). En el proceso de formación de biopelículas, SarA reprime la expresión de genes de proteasas extracelulares y activación de *bap*, *icaAR* (Oriol *et al.*, 2021; Schilcher y Horswill, 2020; Ramírez *et al.*, 2020). Al examinar una biblioteca de mutantes por inserción de un transposón en una cepa clínica de *S. aureus*, se identificó a SarA como esencial para el desarrollo de biopelículas. La formación de biopelículas de *S. aureus* está asociada con la producción de polisacáridos de adhesión

extracelular / poli- β (1-6) – N-acetilglucosamina (PIA / PNAG), producto de la expresión del operón *ica* (Oriol *et al.*, 2021). Las mutaciones de *sarA* en varias cepas de *S. aureus* genéticamente no relacionadas disminuyeron la producción de PIA/PNAG y afectaron por completo el desarrollo de biopelículas, tanto en estado estacionario como en condiciones de flujo a través de un mecanismo independiente *agr*. El mismo grupo de investigadores mutó *sigB* y la eliminación completa de *sigB* no afectó la producción de PIA/PNAG ni la formación de biopelículas (Valles *et al.*, 2003). Además, la doble mutante *sarA-sigB* mostró una disminución en la expresión de *ica*, pero un aumento de la producción de PIA/PNAG y la formación de biopelículas en comparación con la mutante única en *sarA*. Lo que sugiere que SarA activa el desarrollo de biopelículas en *S. aureus*, al mejorar la transcripción del operón *ica* y supresión de la transcripción de una proteína involucrada en el recambio de PIA/PNAG o un represor de su síntesis, cuya expresión sería dependiente de SigB (Valle *et al.*, 2003).

3.3.3 Factor sigma B (SigB)

Los mecanismos de regulación de la expresión genética son diferenciales, en función de las condiciones del ambiente, las señales del hospedero, así como del fondo genético de cada bacteria. La ARN polimerasa (ARNP) es la maquinaria celular responsable de la transcripción, formada de subunidades α i, α ii, β , β' y ω . La ARNP forma una holoenzima, al unirse al factor sigma y le permite reconocer la región promotora -35 y -10, existen varios factores sigmas, por ejemplo: la expresión de genes del metabolismo primario están regulados por SigA; SigH, responde a condiciones de competencia natural en *S. aureus* (Jenul y Horswill, 2019); SigS responde a estrés por altas temperaturas y SigB reconoce los promotores de los genes, que se expresan en condiciones de estrés oxidativo, térmico, osmótico y en fase estacionaria en *S. aureus* (Schulthess *et al.*, 2011; Jenul y Horswill, 2019).

El factor SigB fue identificado por primera vez en *Bacillus subtilis* (Haldenwang *et al.*, 1979); en la actualidad se ha reportado la región promotora reconocida por SigB -35 (GTTTAA) con 14 pb intermedias a la región -10 (GGTAT) (Yuan *et al.*, 2024). El factor SigB es uno de los más estudiados en Firmicutes (*Bacillus* y *Staphylococcus* spp.). El operón *sigB* se transcribe a partir de tres promotores (sig P1, P2 y P3) controlados

diferencialmente: un promotor dependiente de SigA, denominado *sigB* P1, que da lugar a una transcripción de 3.6 kb. Este promotor abarca *rsbU-rsbV-rsbW-sigB*, y un promotor dependiente de SigB, P3, produce un transcrito de 1.6 kb, que abarca *rsbV-rsbW-sigB*. Un tercer promotor denominado P2 genera un transcrito de 2.5 kb, que incluye *rsbU-rsbV-rsbW-sigB*, mediante autorregulación (Senn *et al.*, 2005). SigB en *S. aureus* es de 29 kDa (Wu *et al.*, 1996). El factor anti-sigma RsbW se activa cuando las células están bajo estrés ambiental. RsbU, desfosforila a RsbV (anti-anti-SigB), es un regulador positivo de SigB y es esencial para la activación de la expresión de *sigB*. En una cepa de *S. aureus* RF122 causante de mastitis bovina se han identificado 225 genes regulados por SigB (Supa-amornkul *et al.*, 2019), en cambio, Wang y col., en el 2022 reportan más de 250 genes regulados por este factor en *S. aureus* MRSA24. SigB regula la expresión de otros reguladores maestros, por ejemplo: reduce los niveles de expresión de *arnIII* del sistema Agr e influye en la transcripción de *sarA* dependiendo de la cepa (Schilcher y Horswill, 2020). Además, SigB reprime al sistema SaeRS y activa la expresión de SarA dependiendo de las condiciones ambientales (Schilcher y Horswill, 2020; Peng *et al.*, 2022; Guo *et al.*, 2022). Se ha reportado que SigB regula genes involucrados en respuesta a estrés ambiental, estrés térmico, ciertas condiciones metabólicas asociadas a patogénesis, resistencia a meticilina y glucopéptidos, internalización de células epiteliales, apoptosis, virulencia, biosíntesis de estafiloxantina, pared celular, cápsulas y biopelículas (Jenul y Horswill, 2019; Supa-amornkul *et al.*, 2019; Schilcher y Horswill, 2020; Wang *et al.*, 2022). En *S. aureus*, SigB activa la expresión de genes de varias adhesinas (FnbA y ClfA), en las primeras etapas de la formación de biopelículas y reprime varios genes de exoproteínas (nucleasa y proteasas), involucradas en la dispersión de biopelículas (Atwood *et al.*, 2015; Schilcher y Horswill, 2020).

3.3.4 Sistema SaeRS

El locus *sae* en *S. aureus* codifica el sistema de dos componentes SaeRS, identificado por Giraudo *et al.* (1994), caracterizado en una mutante por transposición (Tn551) deficiente en la producción de exoproteínas como hla, hlb, nuc y coa (Schilcher y Horswill, 2020).

El operón *sae* consta de los genes *saeP*, *saeQ*, *saeR* y *saeS* (*saePQRS*); presenta dos regiones promotoras P1 y P3. El promotor P3 se encuentra dentro de *saeQ*, permite la transcripción sólo de *saeR* y *saeS*, es un promotor de expresión basal constante (Liu *et al.*, 2016). El promotor P1 es un promotor fuerte, que es autoinducido y se ubica hacia el extremo 5' de *saeP* y permite la expresión de los cuatro genes (Liu *et al.*, 2016). SaeS es una histidina cinasa bifuncional (cinasa y fosfatasa); SaeR es un regulador de respuesta de la familia de OmpR compuesto por 228 aminoácidos. En el extremo amino terminal de SaeR contiene el dominio receptor donde Asp51 es el sitio de fosforilación (Patel y Rawat, 2023). La fosforilación en Asp51 es esencial para que SaeR se una al ADN. *saeP* y *saeQ* codifican para las proteínas auxiliares de *saeRS* (Liu *et al.*, 2016). *SaeP* codifica una lipoproteína de 146 aminoácidos, mientras que *saeQ* codifica una proteína de membrana de 157 aminoácidos, con cuatro hélices transmembranales (Liu *et al.*, 2016). SaePQ son necesarios para la activación del sistema Sae (Liu *et al.*, 2016). Los mecanismos de transducción de señales, en el sistema SaeRS inicia cuando la histidina cinasa (SaeS) que se autofosforila en His-131, para fosforilar a SaeR al detectar señales ambientales, como: péptidos de neutrófilos humanos, HNPs, defensina- α , peróxido de hidrogeno, entre otros, en seguida, SaeR fosforilado se une a la secuencia de unión SaeR (SBS), para regular la expresión de los genes diana de este sistema (Liu *et al.*, 2016).

Se ha reportado que bajos niveles de expresión SaeR fosforilado son suficientes para activar algunos genes como *hla*, *hld*, en cambio es necesario altos niveles SaeR fosforilado para activar la expresión de *fnBPA*, *fnBPB*, *coA*, además, dependiendo de las condiciones de crecimiento puede inducir o reprimir las proteínas de unión a inmunoglobulinas, nucleasas extracelular, leucotoxinas A / B o G / H, involucradas en la patogénesis y formación de biopelículas (Zurek, *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2016; Schilcher y Horswill, 2020; Patel y Rawat, 2023).

3.4 Biopelículas

3.4.1 Formación de biopelículas

Las biopelículas son una matriz de polímeros extracelulares (EPS), formada por agua en un 97 %; los carbohidratos, proteínas, ADN y ARN extracelular (ADNe y ARNe) constituyen el 3 % de la matriz secretada por los microorganismos en diferentes fases de desarrollo, en respuesta a señales ambientales (Peng *et al.*, 2022; Chiba *et al.*, 2022). Al inicio de la formación de las biopelículas, una comunidad de bacterias se adhiere a una superficie biótica o abiótica mediante uniones reversibles débiles (interacciones electrostáticas como: puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals).

Entre las moléculas que la constituyen los PIA que contienen grupos con cargas positivas, negativas y grupos hidrofóbicos. En las moléculas con grupos negativos se incluyen fosfatos, sulfatos, grupos carboxilos, ácidos glutámicos y ácidos aspárticos. El principal PIA es PNAG que interaccionan con el ácido teicoico de la pared celular de *S. aureus*, facilitando la adhesión. Los componentes de la superficie microbiana que reconocen moléculas de la matriz adhesiva (MSCRAMMs), forman parte de los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMs) detectadas por los receptores de reconocimiento de patrones (PRR's), al desarrollarse la biopelícula se unen por interacciones ligando receptos, los ácidos teicoicos de la pared celular (WTA) se unen mediante enlaces covalentes a los peptidoglucanos con enlaces fosfodiéster al hidroxilo del C6 en el N-acetil-acido murámico, los WTA permiten la adherencia a la superficies donde se desarrollan la biopelículas (Patel y Rawat, 2023). Los ácidos nucleicos extracelulares forman la fase “cementante”, estas moléculas brindan cargas negativas, que interacciona con las cargas positivas de la superficie abiótica o biótica, para estabilizar la estructura de la biopelícula. En la fase de maduración y unión irreversible, las células bacterianas sésiles pueden transferirse información genética involucrada en generar resistencia a sustancias antimicrobianas (Idrees *et al.* 2021; Chiba *et al.*, 2022). Al incrementar la biopelícula forma una torre y los nutrientes disponibles disminuyen, lo que provoca cambios en el fenotipo de las células bacterianas, surgiendo células aerobias, anaerobias, persistente, además, se activa la autólisis o muerte celular programada, por lo que la distribución de las células bacterianas es heterogénea en la

biopelícula; posteriormente se da la fase de éxodo, las células bacterianas secretan péptidos autoinductores de detección del *quorum* (*agr*) en bacterias Gram positivas, lo que permite la secreción de proteasas y nucleasas, PSM $\alpha\beta$, que participan en la dispersión de la biopelícula (Schilcher y Horswill, 2020; Peng *et al.*, 2022).

3.4.2 Red reguladora de las biopelículas en *S. aureus*

Uno de los reguladores del desarrollo de biopelículas es el sistema QS, así como otros sistemas de dos componentes (SaeRS) y factores sigma (*SigB*) que participan en la formación de biopelículas en respuesta a señales ambientales (pH, disponibilidad de nutrientes y flujo de fluidos, moléculas del hospedero, interacciones entre microorganismos) (Schilcher y Horswill, 2020; Peng *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2022).

La Tabla 1 muestra una descripción de los procesos regulatorios que contribuyen a la formación, estructuración y desmontaje de las biopelículas de *S. aureus*.

Tabla 1. Reguladores de biopelículas estafilocócicas

Regulador	FUNCIONES	PARTICIPACIÓN EN LA BIOPELÍCULA
Agr	Sistema de comunicación célula-célula. TCS con AIP como moléculas de señalización; producción de proteasas (<i>splAF</i> , <i>sspAB</i>); <i>hld</i> ; pms $\alpha\beta$; represión de adhesinas (<i>fnbpB</i> , <i>fnbpA</i> , <i>sdrC</i>), nucleasas (<i>nuc</i>).	Fijación inicial y desmontaje de la biopelícula.
SaeRS	TCS; estimulación de adhesinas (<i>fnbpAB</i> , <i>eap</i>), <i>coa</i> , <i>sbi</i> , proteasas (<i>splA</i>); toxinas, <i>lukABGHE</i> , <i>lukF-PVL</i> , <i>hld</i> , <i>hlgABC</i> ; <i>nuc</i> .	Maduración de la biopelícula.
SarA	Represión de producción de proteasas y estimulación de PIA (<i>ica</i>); regulación de adhesinas, estabiliza la vida media de ARNm (<i>srbV</i> , <i>saeR</i> , <i>agrA</i> , <i>hla</i> , <i>hld</i> , <i>spA</i>).	Represión de proteasas; regulador positivo de formación de biopelículas.
SigB	Respuesta al estrés; estimulador de adhesinas (<i>fnbpAB</i> , <i>clfA</i> , <i>sdrC</i>) y represor de proteasas (<i>sspA</i>); pms $\alpha\beta$ y nucleasas (<i>nuc1</i>); <i>hla</i> .	Participa en el inicio y el desmontaje.

Tomada y modificada de Schilcher y Horswill (2020). Complementada con Bronesky *et al.*, (2016); Liu *et al.*, (2016); Ramírez *et al.*, (2020); Oriol *et al.*, (2021); Guo *et al.*, (2022); Wang *et al.*, (2022); Patel y Rawat, (2023). TCS, sistemas de dos componentes; CWA, proteínas de pared celular.

3.4.3 *S. aureus* en interacción en el sistema inmune humano

La capacidad de *S. aureus* para evadir el sistema inmune del hospedero, puede atribuirse, en parte, a su prologada interacción coevolutiva con el hospedero, así como a su habilidad para optimizar su genoma cromosómico, y su notable flexibilidad genética. Esta plasticidad está sustentada por la presencia de elementos genéticos móviles, islas de patogenicidad, plásmidos, fagos y genes de resistencia a antibióticos integrados en el cromosoma. Se ha analizado la tasa de mutación y aunque es baja, existen indicios de inserciones, inversiones en el ADN, también el proceso de recombinación le permite adaptarse; la resistencia a sustancias antimicrobianas, por la transferencia horizontal de genes; el cambio fenotípico (colonias blancas – pequeñas) asociado a ciertas infecciones persistentes y la producción de biopelículas contribuyen a la patogenicidad, la secreción de leucocidina Pantón – Valentine (PVL), HlgAB en estado sésil inducen la formación de trampas extracelulares de los neutrófilos (NET's). Sin embargo, las bacterias en estado sésil dentro de la biopelícula, liberan nucleasas que degradan las NET's y la enzima adenosina sintasa que induce apoptosis en los macrófagos (de Vor *et al.*, 2020; Howden *et al.*, 2023). LukAB contribuye a la evasión de la fagocitosis mediada por los neutrófilos (Bhattacharya *et al.*, 2020). Las bacterias en biopelículas son protegidas del sistema del complemento del hospedero y de las IgG, ya que tienen un acceso limitado a las PAMP's, al estar cubiertas de polímeros extracelulares PIA/PNAG, logran evitar la fagocitosis (de Vor *et al.*, 2020). Además, los polisacáridos son desacetilados y provocan un cambio en las cargas positivas de la membrana celular y facilitan la excreción de los péptidos antimicrobianos (AMP). *S. aureus* expresa la proteína A, que se une a la región Fc de la IgG y a la Fab de la IgM, también, funciona como superantígeno e induce la muerte de células B. La proteína Sbi se une al factor H, al C3 y la Fc de IgG, para evadir su eliminación e inactivación del sistema inmune del hospedero. EaP inhibe la

sedimentación de C3B y previene la fagocitosis. En cambio, cuando los PMN logran fagocitar a la bacteria, esta libera toxinas formadoras de poros que inhiben la muerte de la bacteria (Fig. 4). Las proteasas sintetizadas SspA, SspB, Aur por *S. aureus* en estado sésil, inhiben la opsonización de la bacteria. También, es capaz de sintetizar proteasa V8, entre otras para eliminar a los AMP. La enzima MrpF transmembranal adiciona lisinas a la capa de peptidoglicanos, y modifica las cargas de la membrana externa, para la inactivación de los AMP. La enzima OatA es la responsable de la O-acetilación de la capa de peptidoglicanos e inhibe la actividad de los lisosomas, lo que impide la síntesis de IL-1 β , necesaria para el reclutamiento de los neutrófilos. Al incrementar la concentración de citocinas proinflamatorias, se genera un aumento de la expresión de *fnbpB*, *clf* y *cna* e inhibe la expresión de leukotoxinas (Fig. 4) (Kanangat *et al.*, 2007; Nasser *et al.*, 2019; de Von *et al.*, 2020; Patel y Rawat, 2023).

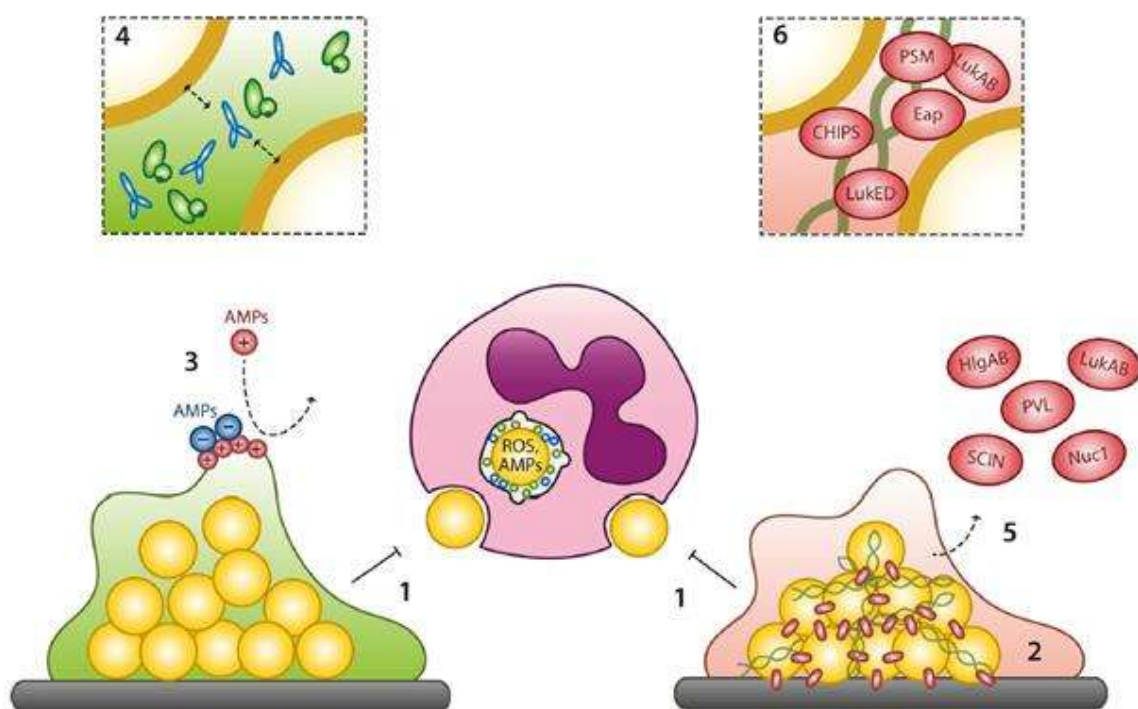


Figura 4. La producción de biopelículas en *S. aureus* evaden el sistema de complemento y la opsonización, por la cubierta de EPS, la red de ADN y la secreción de proteínas y toxinas. 1) La biopelícula evita la fagocitosis. 2) Los EPS evitan el reconocimiento de PAMPs. 3) La cubierta de EPS impide la penetración de AMPs. 4) Evitan la opsonización de las bacterias. 5) Secreción de toxinas para evadir al sistema inmune. 6) Incorporación de moléculas de proteínas a los EPS. (Imagen modificada de de Von *et al.*, 2020).

3.5 Las citocinas como señal de comunicación interreino

Varios estudios han demostrado que factores como alimentación, condición física y emocional del huésped influyen en los procesos celulares tanto en organismos procariotas como eucariotas; al establecerse un patógeno en el huésped, para desarrollar una infección se da una emisión de señales en ambas direcciones. Estos factores incluyen hormonas peptídicas, insulina, hormonas esteroides (progesterona, estrógeno), dehidroepiandrosterona (DHEA), monoaminas, vitamina K. Se ha demostrado que la insulina puede ser un compuesto de señalización de quórum, como una señal exógena, lo que sugiere que los microorganismos utilizan las señales químicas producidas por el hospedero. Estas señales químicas actúan como un sistema de comunicación microbiana, permiten ubicar al patógeno, además de actuar como una advertencia para las bacterias de la necesidad de un cambio en la expresión genotípica, para optimizar su supervivencia en un entorno hostil (Feraco *et al.*, 2016).

3.6 Interacción de *S. aureus* con el sistema inmune

Al ser reconocidas las bacterias por los PRR'S (Receptores de reconocimiento de patógenos) de las células del hospedero son segregadas señales químicas como las citocinas, que son un grupo de proteínas y glicoproteínas producidas por neutrófilos, macrófagos, mastocitos, células T y B, fibroblastos, células endoteliales, neuronas, etc., que actúan de forma sinérgica o antagónica, como reguladores de la respuesta inmunitaria e inflamatoria, un estudio analizó, la comunicación entre 86 tipos de citocinas en 17 tipos de células diferentes, identificaron la comunicación específica entre cada grupo de células inmunológicas (Cui *et al.*, 2024). Las citocinas actúan como reguladores sistémicos a concentraciones del orden de nano o picomoles, modulando la actividad de un amplio espectro de tipos celulares que, en general, son superiores en células diana que las hormonas. Por otro lado, las citocinas pueden actuar como factores de crecimiento locales, a través de un mecanismo autocrino (sobre la propia célula), paracrino (sobre una célula vecina), yuxtacrino (implicando interacciones intercelulares) o retrocrino (a través de formas solubles de ciertos receptores de membrana de células vecinas). En cualquier caso, la acción biológica de las citocinas en interacción con sus receptores de membrana específicos desencadena una cascada de reacciones bioquímicas en el interior de la

célula diana (Justiz y Qurie, 2022). Las citocinas desempeñan un papel clave en el proceso inflamatorio, que es definido por el balance entre citocinas pro y antiinflamatorias. Entre las citocinas proinflamatorias destacan las quimiocinas, grupo de péptidos de bajo peso molecular entre los que se encuentran la IL-8, IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra, IL-18, IL-33, IL-36 α , IL-36Ra, entre otras (Cui *et al.*, 2024), que están implicadas en la quimiotaxis y en la activación de diferentes tipos celulares que participan en la inflamación. La IL-1 y el TNF tienen un efecto sinérgico sobre la inflamación. Por otra parte, en la familia IL-6 se ubican IL-11, IL-27, IL-30, IL-31, LIF, OSM, CT-1, NP, IL-12, IL-23, IL-Y, IL-6 con propiedades proinflamatorias (Cui, *et al.*, 2024), son uno de los principales inductores de las proteínas de fase aguda y antiinflamatorias, en este sentido es capaz de promover la síntesis de IL-1ra y de los receptores solubles del TNF (Filella *et al.*, 2002). Existen numerosas citocinas antiinflamatorias, entre las que destacan en la familia IL-10 (IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24) (Cui *et al.*, 2024), el IL-1ra (receptor del antagonista de la IL-1) y los receptores solubles de la IL-1 (p68) y del TNF (p55 y p75).

3.6.1 Factor de necrosis tumoral α

En la familia de los factores de necrosis tumoral (TNF) se ubican los TNFSF1 al TNFSF18 (Cui *et al.*, 2024); el TNF α soluble es una proteína de 157 aminoácidos, con un peso de 17 kDa; la producen los monocitos, macrófagos y linfocitos. Ejercen un efecto antitumoral a través de un doble mecanismo que incluye la inhibición de la angiogénesis, que produce la necrosis hemorrágica del tumor, y el aumento de la respuesta inmunitaria antitumoral, acción en la que actúa sinérgicamente con el IFN. También, el TNF actúa en el desarrollo del shock séptico y en la caquexia, estado catabólico asociado a las enfermedades crónicas, con pérdida de peso, anorexia y anemia. El TNF α es detectado a través de dos receptores, de 55 kDa (TNFR-I) y de 75 kDa (TNFR-II), que también utiliza el TNF- β , el cual presenta una homología con respecto al TNF de 30 %. TNF-alfa regula la apoptosis, se encarga de la activación de la inflamación a través de NFK-B y caspasas, activación de proteínas cinasas en condiciones de estrés (Zhang *et al.*, 2007).

Las citocinas de las familias de interleucina 1 y TNF tienen una función efectora, al iniciar la respuesta de defensa del huésped (HDR) en un proceso infeccioso o no infeccioso (Meduri, 1999). Una vez liberadas a nivel tisular, estas citocinas actúan sobre

las células epiteliales, las células del estroma (fibroblastos y células endoteliales), la matriz extracelular, las células circulantes reclutadas (neutrófilos, plaquetas, linfocitos) para causar una segunda liberación de citocinas con amplificación de la HDR. TNF e IL-1 tienen efectos biológicos dependientes de la concentración (desde pg/ml hasta ng/ml). Los niveles óptimos de estas citocinas son importantes para una defensa exitosa, a concentraciones progresivamente más altas median proporcionalmente las respuestas locales o sistémicas, con efectos destructivos en lugar de protectores sobre el huésped (Van *et al.* 2025).

3.6.2 La interleucina-1 β

La interleucina-1: Es un polipéptido de unos 15-20 kDa, que existe en dos formas, denominadas IL-1 α e IL-1 β , con una homología de apenas el 26 % y que derivan de una proteína precursora (pro-IL-1 α y pro-IL-1 β). Ambas citocinas actúan sobre un mismo receptor, por el que también compite el antagonista del receptor de la IL-1 (IL-1ra), sustancia que impedirá la actuación de la IL-1. La IL-1 α actúa intracelularmente y no se encuentra en la circulación general, excepto en casos de enfermedad grave. En cambio, la IL-1 β es la forma predominante en el espacio extracelular. Los macrófagos activados son la principal fuente fisiológica de IL-1, citocina que destaca por su capacidad proinflamatoria (Filella *et al.*, 2002). Los linfocitos T y B, células del endotelio, los fibroblastos, células tisulares son el principal objetivo, aumentan la adhesión de los leucocitos/endotelio, inducen fiebre al estimular al hipotálamo y la liberación de proteínas de fase aguda en el hígado.

3.6.3 Interleucina-10

Interleucina-10: Proteína de 178 aminoácidos, con una masa de 18.6 kDa; es producida por los linfocitos T de tipo Th2 y con capacidad de inhibir la síntesis de IFN y de IL-2 por parte de los linfocitos T. Es la principal citocina antiinflamatoria, actividad que ejerce a través de la inhibición de la síntesis de IL-1, IL-6 y TNF por parte de los macrófagos (Grimbaldeston *et al.*, 2007). Sus principales objetivos son las células Th1. Provoca inhibición de la IL-2 e INF- γ . Disminuye la presentación de antígenos y la expresión de MHC clase II de las células dendríticas, moléculas coestimuladoras en los

macrófagos, y también regula a la baja las respuestas a patógenos de las células Th17. Inhibe la producción de IL-12 por parte de los macrófagos (Justiz y Qurie, 2022). Durante una infección, puede inhibir las células Th1, NK y macrófagos, puede impedir la eliminación de bacterias, virus, parásitos, hongos y aumentar la inmunopatología (Couper *et al.*, 2008).

Staphylococcus aureus induce la secreción de citocinas al penetrar el tejido del hospedero, colonizar y desarrollar infecciones en diferentes tejidos, prótesis o catéteres; las células perciben mediante los PRR's a las bacterias, el sistema inmunológico se activa y emiten señales (citocinas, quimiocinas, prostaglandinas, histamina, etc.) que desencadenan un proceso inflamatorio.

IV. PLANTEAMIENTO DE HIPÓTESIS

“*Staphylococcus aureus* regula la formación de biopelículas en respuesta a señales inmunomoduladoras del hospedero”.

V. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar el efecto de las señales inmunomoduladoras (TNF α , IL-1 β y IL-10) del hospedero sobre la formación de biopelículas y los niveles de expresión de reguladores globales (*agrA*, *saeR*, *sarA*, *sigB*, y *arnIII/hld*) en *S. aureus*.

5.2 Objetivos particulares

- 1) Evaluar el efecto del PBS sobre la formación de las biopelículas de *S. aureus* ATCC 27543 (MSSA) y USA 300 (MRSA).
- 2) Determinar el efecto de dos citocinas proinflamatorias (TNF α e IL-1 β) y antiinflamatorias (IL-10) sobre la formación de biopelículas en las cepas *S. aureus* (MSSA y MRSA).
- 3) Evaluar la viabilidad de las células y la estructura de las biopelículas *in vitro* inducidas con las citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias sobre *S. aureus* (MSSA y MRSA).
- 4) Evaluar el efecto de las citocinas proinflamatorias (TNF α e IL1 β) y una antiinflamatoria (IL-10) en la expresión de *agrA*, *arnIII/hld*, *saeR*, *sarA*, *sigB*, reguladores globales asociados a la formación de biopelículas en *S. aureus* (MRSA).

VI. RESULTADOS

6.1 CAPITULO I

Artículo de investigación

Zavala H. A. N., Salto R. C., Bravo P. A., Baizabal A. V. M., Valdez A. J. J. 2025. IL-1 β , TNF α Y IL-10 REDUCEN LA VIABILIDAD CELULAR Y ALTERAN DE FORMA DIFERENCIAL LA ESTRUCTURA DE LA BIOPELÍCULA Y LOS NIVELES DE EXPRESIÓN DE LOS GENES EN *Staphylococcus aureus* USA 300. Front. Immunol. 16:1665397. DOI: 10.3389/fimmu.2025.1665397

Las infecciones causadas por *S. aureus* pueden ser adquiridas en comunidad, en condiciones intrahospitalarias, asociadas a animales de compañía o de interés agropecuario, de forma zoonótica. Las infecciones causadas por este patógeno oportunista representan un reto para la medicina veterinaria y humana. *S. aureus* es capaz de evadir el sistema inmunológico del hospedero mediante diferentes estrategias, las cuales se pueden dividir en: impedir la traslocación y la activación de los neutrófilos, impedir la acción de las células fagocíticas, por la producción de factores de virulencia, como la formación de las biopelículas; impedir la eliminación de las especies reactivas de oxígeno (ROS); inducir la destrucción de los neutrófilos a través de la producción de toxinas y la degradación de los péptidos antimicrobianos por degradación proteolítica (Cheung *et al.*, 2021; Nasser *et al.*, 2019). Al desarrollar una infección, *S. aureus* detecta y responde a señales del hospedero, se establece, mediante la generación de biopelículas, en catéteres, prótesis asociadas a los tejidos, que a su vez liberan moléculas inmunomoduladoras como citocinas, quimiocinas, neurotransmisores, entre otras.

La presente investigación aborda el papel que desempeñan tres citocinas (IL-1 β , TNF α e IL-10) sobre la viabilidad bacteriana y la capacidad para formar biopelículas, así como la regulación de factores de virulencia en dos cepas de *S. aureus*, una asociada a mastitis bovina (ATCC27543; ST8, *spa*-type 008; *agr*-type I, MSSA) y otra a infecciones cutáneas humanas (USA 300; ST8; *spa*-type 008 *agr*-type I, MRSA, SCC-IV), ambas con fondo genético similar, pero que generan patologías diferentes. Las citocinas evaluadas, más allá de su función clásica, afectan directamente la biología bacteriana. Las citocinas IL-1 β , TNF- α e IL-10 inducen una disminución dosis-dependiente de la viabilidad bacteriana y la capacidad de formar biopelículas, fenómeno comprobado por evaluación

cuantitativa (conteo de UFC/ml por goteo en placa, método colorimétrico con cristal violeta determinado en el espectrofotómetro, microscopía confocal de barrido láser y la medición de los niveles de expresión de los genes mediante RT-PCR en tiempo real, con el método $\Delta\Delta CT$). Los resultados fueron analizados mediante ANOVA de una vía (Software GraphPad Prism, versión 10)

Las cepas estudiadas de *S. aureus* presentaron un efecto diferencial en respuesta a cada una de las citocinas, lo que podría dar indicios de la activación de mecanismos específicos de detección y vías de transducción de señales en cada citocina, dependientes tanto del fondo genético bacteriano como del entorno. Cada citocina provoca patrones únicos en la estructura, al incrementar el número de canales, el espesor de la biopelícula y modifica la proporción entre células vivas y muertas, lo que se traduce en biopelículas más frágiles, propensas a desprenderse. Así, las células viables pueden dispersarse y podrían ser capaces de colonizar nuevos sitios. Esto enfatiza la relevancia de la comunicación entre bacterias y el hospedero en el desarrollo y/o mantenimiento de las infecciones persistentes. A nivel molecular, las citocinas alteran los niveles de expresión de genes reguladores globales involucrados en la regulación de virulencia y la formación de biopelículas. Los genes *arnIII* y *sigB* presentaron un nivel de transcripción alto en las biopelículas formadas bajo el efecto de TNF- α , lo que sugiere modificaciones en la estructura de la biopelícula, favoreciendo la disgregación y la movilidad bacteriana. IL-1 β reprime *agrA*, *sarA* y *sigB*, lo que provoca una reducción en la capacidad de adhesión y altera la estructura de la biopelícula. En los resultados con IL-10 se observó un efecto bimodal de dos genes, que participan tanto en la formación como en la dispersión de la biopelícula, lo que podría dar un indicio de la importancia de estudiar el efecto de las citocinas individual, y la interacción en modelos *in vivo*. Este artículo contribuye al campo del conocimiento denominado “endocrinología microbiana”, donde las bacterias soportan y evaden la respuesta inmunitaria; son capaces de utilizar las señales del hospedero, para ajustar su metabolismo. La detección de citocinas, por *S. aureus* puede constituir una estrategia evolutiva, para adaptar sus mecanismos de supervivencia y colonización, al ser, la biopelícula, un mecanismo para adaptarse, sobrevivir, a las condiciones adversas del hospedero o a la competencia con la microbiota del nicho animal o evadir el efecto de los antibióticos, al disminuir el metabolismo, en las

células persistentes de las biopelículas. Este es el primer reporte sobre la influencia específica de tres citocinas sobre la viabilidad y la organización estructural de factores de virulencia como las biopelículas formadas por *S. aureus*.

Los resultados representan una ruta prometedora, para el diseño de tratamientos, dirigidos al sistema de detección de densidad poblacional (Agr), al resultar cambios en la expresión del ARNIII (regulador anti sentido de factores de virulencia), bajo las citocinas analizadas. Enfocarse en conocer los mecanismos de la percepción de las señales inmunomoduladoras, mediante la identificación de posibles receptores para citocinas por parte de *S. aureus*. Desde la perspectiva tradicional las señales del hospedero activan procesos biológicos en las células eucariontes, sin embargo, es importante considerar la interacción patógeno-hospedero, para identificar los mecanismos de respuesta en las bacterias y poder diseñar estrategias para inhibir o desintegrar las biopelículas de *S. aureus*.

6.2 CAPITULO II

Artículo de divulgación

Zavala-Hernández A. N., Valdez-Alarcón J.J., 2024. Mis microorganismos y yo. Un dialogo constante. <https://www.sabermas.umich.mx/archivo/articulos/658-numero-73/1358-mis-microorganismos-y-yo-un-dialogo-constante.html>

El cuerpo humano es un nicho para la microbiota (microorganismos del cuerpo), que cohabita con él. Existe una interacción de factores bióticos (las células del ser humano y los microorganismos) y abióticos (temperatura, agua), en las diferentes partes del cuerpo -la piel, la boca, nariz, garganta, intestino, estomago, mucosas de los diferentes órganos, entre otros- con los microorganismos (virus, bacterias, hongos), que pueden afectar la salud física, psicológica o alterar la cantidad de bacterias benéficas frente a las patógenas, lo que puede causar enfermedades. Según los estudios más recientes reportados en la comunidad científica, la función de la microbiota en el humano es la activación de los mecanismos de defensa, modifica la densidad ósea, ayuda al metabolismo de las sales biliares, secreta neurotransmisores, hormonas, controla patógenos y afecta la conducta del hospedero.

El primer contacto con los microorganismos se da desde el útero, antes del nacimiento, a lo largo de la vida, la microbiota se modifica, desde la placenta se han identificado bacterias que interaccionan con el feto; el tipo de nacimiento – parto o cesarea – es otro factor, que interviene en la diversidad de la microbiota; a las seis semanas del nacimiento se establece el microbiota del individuo, y se ve afecta durante su vida, por los hábitos de alimentación, el estado de salud, consumo de “drogas” y antibióticos, las interacciones con mascotas, el practicar deportes, un estilo de vida activa o sedentaria, entre otras. En la interrelación de la microbiota con los humanos, se infiere que se establece una comunicación: así como los humanos utilizan diversos medios de comunicación (teléfono, a través de dispositivos como computadoras, tabletas con el uso de redes sociales), que es importante para establecer relaciones benéficas, patógenas o de ayuda mutua. Los microorganismos también logran comunicarse entre ellos y con las células del cuerpo humano, que emiten señales a través de conexiones ligando – receptor, ubicados en las membranas de dichas células.

Los microorganismos logran establecer comunicación con las células humanas a través de un lenguaje químico, mediante la producción y detección de proteínas, ácidos grasos de cadena corta, ácidos nucleicos, neurotransmisores, citocinas, hormonas, factores de crecimiento, etc. Gracias al estudio de dicha interrelación, surge el campo del conocimiento denominado endocrinología microbiana, para entender la comunicación química entre los microorganismos y su hospedero. Sin embargo, entre los microorganismos también existen vías de comunicación, ya sea interespecies, intraespecies o interreino, con mecanismos conocidos como sistemas de detección de densidad poblacional, con el uso de moléculas de diferente naturaleza. Las bacterias y las células humanas han co-evolucionado, lo que les brinda la posibilidad de interactuar y obtener beneficios conjuntos. Los microorganismos producen moléculas asociadas a fenómeno de densidad poblacional (*quorum sensing*), que son detectadas por las células eucariontes del hospedero, que inducen la expresión y la síntesis de interleucinas; el incremento de estas moléculas activan la producción de células de defensa y anticuerpos, modifican el contenido celular, la permeabilidad, secreción de moléculas, lo que provoca una modificación de los solutos dentro y fuera de la célula, en un caso extremo pueden provocar la muerte celular programada. Los microorganismos intestinales son capaces de sintetizar moléculas similares, iguales a, o precursoras de las producidas por el hospedero, lo que facilita la colonización de las células intestinales y provoca una competencia con los microorganismos establecidos como microbiota nativa.

También, las enterobacterias (*E. coli*) son capaces de producir neurotransmisores, hormonas, que afectan al sistema nervioso entérico; se podría afirmar que los microorganismos nos gobiernan. Al producirse un desequilibrio entre los microorganismos benéficos y patógenos (disbiosis), se ha asociado a diversas enfermedades psicológicas (autismo, TDHA, psiquiátricas, Alzheimer) y físicas (cáncer, colon irritable). Por su parte, las células del cuerpo humano producen moléculas como adrenalina y dopamina, epinefrina, norepinefrina, adrenalina y noradrenalina, que son producidas también por algunas bacterias que, al detectar un incremento en el número de bacterias, modifican su comportamiento individual por uno de comunidad, activando conductas sociales. El uso de prebióticos y probióticos, transferencia fecal puede ayudar a mantener un equilibrio en la microbiota y mejorar la salud.

VII. DISCUSIÓN GENERAL

Staphylococcus aureus es un patógeno oportunista que controla la virulencia, a través de una red reguladora compleja, lo que le confiere versatilidad y causa diferentes cuadros clínicos, tanto en humanos como en animales. La bacteria, durante el proceso de colonización e invasión utiliza diversos factores de virulencia (Atkinson y Williams, 2009; Williams *et al.*, 2007). A la formación de biopelículas se le considera un determinante de virulencia importante en la patogénesis de esta bacteria, que puede formarse en superficies naturales y sintéticas. Las biopelículas tienen alrededor del 97% de agua y 3 % de materia orgánica que incluye EPS, los cuales constituyen alrededor del 50 al 90% de la materia orgánica total, dependiendo de la cepa bacteriana contiene diferentes sustancias poliméricas (como el ADN y ARN extracelular, proteínas, polisacáridos) y la porción restante, la conforman las colonias bacterianas pequeñas aerobias, anaerobias, persistentes y muertas que constituyen del 10-25% dependiendo de la fase de desarrollo de la biopelícula (Idrees *et al.*, 2021; Chiba *et al.*, 2022).

La formación de las biopelículas está descrita en varias etapas: unión reversible o inicial de adhesión; unión irreversible o multiplicación; etapa de éxodo; fase de maduración de la biopelícula y la fase de dispersión o desprendimiento (Idrees *et al.*, 2021). *S. aureus* tiene una red reguladora compleja interconectada para desarrollar infecciones en el hospedero, incluidas las adhesinas de la superficie celular, las enzimas y toxinas extracelulares (Jenul y Horswill, 2019). Entre los sistemas reguladores se encuentran el regulador de genes accesorios (*agr*) y otros sistemas de dos componentes como SaeRS, SrrAB y ArlRS, los reguladores citoplasmáticos de la familia SarA (SarA, Rot y MgrA); y los factores sigma alternativos (SigB y SigH) (Jenul y Horswill, 2019). En esta investigación se analizaron los efectos de las citocinas pro y antiinflamatorias sobre la formación de biopelículas, los resultados obtenidos fueron que las citocinas disminuyen el grosor, independiente de su función fisiológica en el hospedero, afectan la estructura de una forma diferencial y en el análisis de los niveles de expresión de los reguladores globales involucrados en la formación de biopelículas (AgrA, ARNIII, SarA, SaeR, SigB) se obtuvo un efecto diferencial en los niveles de transcripción frente a cada citocina probada. Con los datos obtenidos se diseñaron modelos hipotéticos de los posibles mecanismos de regulación en la formación de biopelículas, bajo el efecto de TNF α , IL-1 β

y IL-10. Los niveles de expresión relativa de los genes de los reguladores globales (*agrA*, *sigB*, *sarA*, *saeR*, *arnIII/hld* & *gyrA*) mediante RT-PCR indican que hay una inhibición de *agrA*, *sigB*, *sarA*, en cambio, el *arnIII* incrementa en comparación con el gen de referencia (*gyrA*) con IL-1 β . En la literatura, se ha reportado que la región reguladora (P3) del operón *agr*, puede ser inducida por la proteína SarV; además, los niveles de SaeR se mantienen, con un nivel de expresión constante comparado con el gen de referencia, lo anterior bajo el efecto de IL-1 β . En cambio, los niveles de expresión de todos los genes *agrA*, *sigB*, *saeR*, *sarA* y *arnIII* se incrementan con TNF α ; sin embargo, existen niveles de expresión mayores de *arnIII* y *sigB* en comparación con *gyrA*. Al analizar lo reportado en la literatura, se conoce que *arnIII* es un ARN anti-sentido, que reprime la expresión de proteínas de superficie y favorece la expresión de nucleasas y proteasas, así como enzimas que degradan la matriz extracelular de las biopelículas, lo que favorece la presencia de canales y posibles cambios en las proporciones de células vivas aerobias, anaerobias facultativas, persistentes y muertas, proceso que pudiera estar regulado por MgrA, que es regulador pleiotrópico de otros reguladores globales, como el sistema Agr; además, puede activar la formación de capsulas, y reprimir la síntesis de proteínas de superficie ancladas a la pared celular, así como inhibir la autólisis celular y limita la formación de las biopelículas en condiciones de estrés en *S. aureus*, vía la inducción del sistema LytSR, regulador de los genes que codifican la producción de holinas y antiholinas (LrgA). También, se ha reportado que en esta condición SigB favorece su expresión; otro gen que se induce en mayor proporción fue *sarA*, que se sugiere como una proteína tipo histona, que estabiliza los ARN mensajeros de varios factores de virulencia (anti-anti sigma B, *agrA*, *saeR*, *hla*, *hld* y *spA*), pero el ARN mensajero de *spA* es regulado por ARNIII y favorece su degradación formando un doble ARN que es degradado por las ARNasa III, lo que disminuye su traducción. SigB también afecta otros reguladores maestros como MgrA, quién modula el operón de holinas y antiholinas (*cid/lrg*) (Bronesky *et al.*, 2016, Schilcher y Horswill, 2020, Ramírez *et al.*, 2020; Oriol *et al.*, 2021; Guo *et al.*, 2022). Otro de los mecanismos de regulación de la formación de biopelículas es el sistema de dos componentes SaeRS, se ha reportado que bajos niveles de SaeR fosforilado son suficientes para favorecer la expresión de factores que promueven la dispersión de las biopelículas como nucleasas, proteasas, hemolisinas (*hly* y *hla*). Es

decir, el sistema SaeRS puede afectar la formación de la biopelícula de manera positiva o negativa dependiendo de su fase de crecimiento y de la fase de formación de la biopelícula (Guo *et al.*, 2022). Este fenómeno que podría presentarse en presencia del TNF α , en donde la expresión de *saeR* se ve incrementada ligeramente, y da origen al fenotipo observado en la estructura de la biopelícula con poros y mayor proporción de células muertas, de acuerdo con las imágenes observadas en las micrografías del microscopio confocal de barrido láser y el conteo de las UFC/ml. En presencia de las citocinas pro y antiinflamatorias, el regulador que se incrementa es ARNIII, siendo un ARN anti-sentido que incrementa tal vez, los niveles de expresión de proteasas, nucleasas, modulinas solubles en fenol; en la literatura se ha reportado que TCSs y TFs (*saeRS*, *sarA*, *agrAC*) activan la expresión de ARNIII (Menard *et al.*, 2022), situación que podría suceder en presencia de TNF α , esto provocaría la producción de proteasas, nucleasas que disgregan o impiden la formación de biopelículas, lo cual es congruente con los resultados observados en esta investigación. En presencia de la IL-10, los niveles de expresión del sistema de *quorum* (*agrA* y *arnIII*) se incrementaron; de acuerdo con la literatura, participan en la fase final de la formación de la biopelícula, lo que puede provocar la formación de canales, disminuir el grosor de la biopelícula e incrementar la proporción de células muertas observadas en las micrografías. Los niveles de *saeR* y *sarA* se mantienen a un nivel de expresión del gen de referencia, estos niveles de expresión podrían ser suficientes para incrementar la expresión de *arnIII*, y se presenta una disminución de *sigB*. Menard y col. en 2022, exponen la red reguladora entre los diferentes sistemas TCSs y TFs, en el que se establece el papel preponderante de *arnIII* en la red regulatoria (Figura 3), lo que apoya los modelos de regulación propuestos en este artículo. Tales mecanismos de regulación propuestos están enfocados en explicar el efecto de las citocinas analizadas en la formación de biopelículas, en presencia de IL-10 posiblemente se inhibe la expresión de proteínas de superficie para la adhesión de las biopelículas, lo que podría disminuir el espesor de las biopelículas formadas por *S. aureus* MRSA *in vitro*.

Los mecanismos de reconocimiento de las señales inmunomoduladoras del hospedero se producen de forma diferencial, independientemente de su función fisiológica en las células eucariontes, y existe la posibilidad de que las bacterias tengan

receptores de membrana para detectar las citocinas pro y antiinflamatorias o porciones de polipéptidos derivados de la hidrólisis de las citocinas probadas en dicha investigación.

Al analizar, el efecto de la concentración de PBS (solución amortiguadora a base de fosfatos), ésta es inversamente proporcional al grosor de la biopelícula formada en *S. aureus*, lo que resulta interesante, por el hecho de que la solución salina a base de fosfatos, es un diluyente muy utilizado en la investigación. Sin embargo, en el modelo de estudio se observó un efecto negativo en la formación de biopelículas *in vitro*, es una consideración importante, por tal motivo se realizó el cambio por la solución amortiguadora a base de Tris (TBS), la cual no presentó ningún efecto sobre la formación de las biopelículas en condiciones *in vitro*. Al comparar, los datos con la literatura, se han reportado estudios sobre la actividad antimicrobiana de los fosfatos; debido a la capacidad de estas sustancias de acomplejar cationes divalentes esenciales para mantener la estructura celular de los microorganismos, cuyo efecto inhibitorio engloba la mayoría de bacterias Gram-positivas y esporulados (Tremmel, 2021). También está reportado que un mecanismo de regulación de la formación de biopelículas es la concentración de c-di-AMP; la disrupción del gen *gdpP*, que codifica para la fosfodiesterasa, involucrada en la degradación de c-di-AMP; bajos niveles de este nucleótido, inducen la formación de las biopelículas; además, la mutación en *gdpP* afecta la liberación de ADN extracelular, lo que sugiere que puede estar relacionado con la formación de biopelículas en *S. aureus* (Schilcher y Horswell, 2020). Cabe mencionar, que los resultados obtenidos en el presente estudio fueron a las 24 h, tiempo sugerido para evaluar la formación de biopelículas, sería interesante conocer ¿Qué ocurre en periodos de tiempo más cortos?, ¿Qué pasaría con las citocinas, si se adicionan, una vez formada la biopelícula?, sin embargo, por la experiencia y los datos reportados se pudiera inferir, que las citocinas tendrían una limitante física y las células sésiles en las biopelículas presentan un metabolismo basal, pero esas líneas de investigación quedan abiertas, para poder ser dilucidadas.

VIII. CONCLUSIÓN GENERAL

En este estudio se observó un efecto específico de las citocinas, al disminuir la viabilidad y formación de biopelículas en *S. aureus*, con lo que se puede inferir, la posible presencia de receptores para cada citocina o fragmentos de estas. Los datos obtenidos de los niveles de expresión de los reguladores globales involucrados en la formación de la biopelícula en condiciones *in vitro*, sugieren la participación de diferentes rutas de regulación, tal vez mediadas por el ARNIII del sistema de QS. Las observaciones fueron a concentraciones de citocinas “elevadas” respecto a los niveles circulantes en suero, pero congruentes con los incrementos locales en tejidos infectados por *S. aureus*. La respuesta de *S. aureus* a las citocinas puede depender del entorno, donde se establecen las biopelículas y del fondo genético de las cepas *S. aureus* MSSA y MRSA.

IX. PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES

El uso indiscriminado de los antibióticos ha incrementado la resistencia por parte de las cepas de *S. aureus*, lo que ha ocasionado buscar nuevas estrategias para el control de las infecciones. La identificación de genes involucrados en la comunicación patógeno–hospedero mediante un análisis del transcriptoma, con técnicas de secuenciación o microarreglos sería de suma importancia para identificar mecanismos de regulación clave y desarrollar tratamientos antibacterianos. La búsqueda de genes cuya expresión se afecten por la acción de las citocinas como TNF α , IL-1 β e IL-10 sobre la formación de biopelículas, constituye una estrategia dirigida a identificar genes importantes en la interacción patógeno – hospedero. Otro punto a dilucidar sería la participación de los reguladores globales involucrados en la formación de las biopelículas, con la generación de mutantes por transfección o inserción de genes de resistencia por recombinación homóloga en el cromosoma de las cepas de *S. aureus* MRSA y MSSA, para analizar el efecto de las señales inmunomoduladoras del hospedero en dichas cepas. Este trabajo abre nuevas áreas de investigación como: 1) Identificar posibles receptores y rutas de transducción de señales específicas para cada citocina; 2) Moléculas de señalización involucradas en los mecanismos de respuesta a las citocinas, que pudieran ser blanco de nuevos desarrollos farmacéuticos; 3) Indagar las bases de un mecanismo de respuesta de *S. aureus* a la inflamación mediada por otras citocinas en el hospedero.

X. BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA

Atkinson, S and P. Williams. 2009. Quorum sensing and social networking in the microbial world. J R Soc Interface. 6(40):959-978. <https://doi.org/10.1098/rsif.2009.0203>.

Atwood, D.N., A. J. Loughran, A.P. Courtney, A. C. Anthony, D. G. Meeker, H. J. Spencer, R. K. Gupta, C. Y. Lee, K. E. Beenken, M. S. Smeltzer. 2015. Comparative impact of diverse regulatory loci on *Staphylococcus aureus* biofilm formation. Microbiology open. 4(3):436-51. <https://doi.org/10.1002/mbo3.250>. Epub 2015 Mar 21. PMID: 25810138; PMCID: PMC4475386.

Barrientos, L., N. Mercier, D. Lalaouna, I. Caldelari. 2021. Assembling the Current Pieces: The Puzzle of RNA-Mediated Regulation in *Staphylococcus aureus*. Front Microbiol. 12: 706690. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.706690>. PMID: 34367109; PMCID: PMC8334554.

Bautista-Trujillo, G., Valdez-Alarcón, J., Bravo-Patiño, A., Cajero-Juárez, M., Baizabal-Aguirre, V., Arteaga-Garibay, R., Bustos-Martínez, J., Carranza-Germán, S., Rentería-Solórzano, I., Solorio-Rivera, J. 2013. Performance of culture media for the isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis. Journal of Medical Microbiology, 62(3), 369–376. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.046284-0>

Bhattacharya, M., E. T. M. Berends, X. Zheng, P. J. Hill, R. Chan, V. J. Torres, D. J. Wozniak. 2020. Leukocidins and the Nuclease Nuc Prevent Neutrophil-Mediated Killing of *Staphylococcus aureus* Biofilms. Infect Immun. 88(10): e00372-20. <https://doi.org/10.1128/IAI.00372-20> PMID: 32719153; PMCID: PMC7504955.

Bronner, S. *et al.* 2004. Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*: complexity and applications, Microbiology Reviews (28): 183–200

Bronesky, D., Z. Wu, S. Marzi, P. Walter, T. Geissmann, K. Moreau, F. Vandenesch, I. Caldelari, P. Romby. 2016. *Staphylococcus aureus* RNAIII and Its Regulon Link Quorum Sensing, Stress Responses, Metabolic Adaptation, and Regulation of Virulence Gene Expression. Annu Rev Microbiol. 70:299-316. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-102215-095708>

- Chiba, A. M. Seki, Y. Suzuki, Y. Kinjo, Y. Mizunoe, S. Sugimoto. 2022. *Staphylococcus aureus* utilizes environmental RNA as a building material in specific polysaccharide-dependent biofilms. NPJ Biofilms Microbiomes. 4;8(1):17. <https://doi.org/10.1038/s41522-022-00278-z> PMID: 35379830; PMCID: PMC8980062
- Chien, Y., A. C. Manna, A. L. Cheung. 1998. SarA level is a determinant of agr activation in *Staphylococcus aureus*. Mol Microbiol 30:991–1001. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.01126.x>
- Cheung, G.Y.C., J. S. Bae, M. Otto. 2021. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. Virulence. (1):547-569. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1878688>
- Constanza, L., G. Pinilla y J. Navarrete. 2017. Biopelícula en *Staphylococcus* spp.: estructura, genética y control. Enfermedades Infecciosas y Microbiología, 37(1), 18-29. <https://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2017/ei171e>
- Couper, K. N., D. G. Blount, E. M. Riley. 2008. IL-10: The Master Regulator of Immunity to Infection. The Journal of Immunology, 180(9), 5771–5777. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.9.5771>
- Cui, A., T. Huang, S. Li, A. Ma, J. L. Pérez, C. Sander, D. B. Keskin, C. J. Wu, E. Fraenkel, N. Hacohen. 2024. Dictionary of immune responses to cytokines at single-cell resolution. Nature. 625(7994):377-384. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06816-9>
- de Vor L, Rooijakkers SHM, van Strijp JAG. 2020. Staphylococci evade the innate immune response by disarming neutrophils and forming biofilms. FEBS Lett, 594: 2556-2569. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13767>
- Filella, X., R. Molina y A. M. Ballesta. 2002. Formación continuada del médico práctico: estructura y función de las citocinas. Medicina integral: Medicina preventiva y asistencial en atención primaria de la salud, 39(2), 63-71.SSN 0210-9433
- Gao, S., A. Khan, X. Chen, G. Xiao, S. van der Veen, Y. Chen y X. Lin. 2022. Cyclic-di-GMP stimulates keratinocyte innate immune responses and attenuates methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in a murine skin wound infection model. BMC Microbiology, 22(176). <https://doi.org/10.1186/s12866-02202583-1>

- Giannechini, R., C. Concha, R. Rivero, I. Delucci, J. Moreno López. 2002. Occurrence of clinical and sub-clinical mastitis in dairy herds in the West Littoral Region in Uruguay. *Acta Vet Scand.*;43(4):221-30. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-43-221>
- Gilot, P., G. Lina, T. Cochard and B. Poutrel. 2002. Analysis of the genes encoding the RNA III-activating components Agr and TRAP in a population of *Staphylococcus aureus* strains isolated from cows with mastitis. *J. Clin. Microbiol.* 40, 4060–4067. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.11.4060-4067.2002>
- Giraud AT, Martinez GL, Calzolari A, Nagel R. 1994. Characterization of a Tn925-induced mutant of *Staphylococcus aureus* altered in exoprotein production. *J Basic Microbiol*;34(5):317–322. <https://doi.org/10.1002/jobm.3620340507>
- Grimbaldeston MA, Nakae S, Kalesnikoff J, Tsai M, Galli SJ. 2007. «Mast cell-derived interleukin 10 limits skin pathology in contact dermatitis and chronic irradiation with ultraviolet B». *Nature Immunology* 8 (10): 1095-104. PMID 17767162. <https://doi.org/10.1038/ni1503>.<https://patologiabemiliapb.blogspot.com/2014/07/interleucin-as-proinflamatorias-vs.html>.
- Guo Y, Song G, Sun M, Wang J, Wang Y. 2022. Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Front. Cell. infect. Microbiol.* 10:107. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00107>
- Haldenwang, W. G. y R. Losick. 1979. A modified RNA polymerase transcribes a cloned gene under sporulation control in *Bacillus subtilis*. *Nature* 282, 256–260. <https://doi.org/10.1038/282256a0>
- Hochbaum, A., I. Kolodkin-Gal, L. Foulston, R. Kolter, J. Aizenberg, y R. Losick, 2011. Inhibitory Effects of d-Amino Acids on *Staphylococcus aureus* Biofilm Development, *Journal of Bacteriology*, 193(20). <https://doi.org/10.1128/JB.0553411>
- Howden, B. P., S. G. Giulieri, T. Wong Fok Lung, S. L. Baines, L. K. Sharkey, J. Y. H. Lee, A. Hachani, I. R. Monk, T. P. Stinear. 2023. *Staphylococcus aureus* host interactions and adaptation. *Nat Rev Microbiol.* 2023 Jun;21(6):380-395. doi: 10.1038/s41579-023-00852-y. Epub 2023 Jan 27. PMID: 36707725; PMCID: PMC9882747.

- Idrees M, Sawant S, Karodia N, Rahman A. 2021. *Staphylococcus aureus* Biofilm: Morphology, Genetics, Pathogenesis and Treatment Strategies. Int J Environ Res Public Health. 2021 Jul 16;18(14):7602. <https://doi.org/10.3390/ijerph18147602>
- Jenul, C., y Horswill, A. R. 2019. Regulation of *Staphylococcus aureus* virulence. Microbiology spectrum, 7(2), 7-2. 10.1128/microbiolspec.GPP3-0031-2018. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0031-2018>
- Justiz, V. A. y A. Qurie. 2022. Interleukin. En: StatPearls [Internet]. Isla del Tesoro (FL): StatPearls Publishing. PMID: 29763015. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499840/>
- Kamble, E. y K. Pardesi. 2021. Antibiotic Tolerance in Biofilm and Stationary-Phase Planktonic Cells of *Staphylococcus aureus*. Microbial Drug Resistance, 27(1), 312. <https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0425>
- Kanangat, S., A. Postlethwaite, S. Cholera, L. Williams, D. Schaberg. 2007. Modulation of virulence gene expression in *Staphylococcus aureus* by interleukin-1beta: novel implications in bacterial pathogenesis. Microbes Infect. 9(3):408-15. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2006.12.018>.
- Kasela, M., M. Ossowski, E. Dzikoń, K. Ignatiuk, L. Wlazło, A. Malm. The Epidemiology of Animal-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Antibiotics (Basel). 2023 Jun 20;12(6):1079. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12061079>.
- Kavanaugh, J.S., M. Thoendel, A. R. Horswill. 2007. A role for type I signal peptidase in *Staphylococcus aureus* quorum sensing. Mol Microbiol. 65(3):780-98. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05830.x>
- Le, K.Y., S. Dastgheyb, T.V. Ho, M. Otto. 2014. Molecular determinants of staphylococcal biofilm dispersal and structuring. Front Cell Infect Microbiol. 4:167. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00167>.
- Li, M., J. Yu, G. Guo, H. Shen. 2023. Interactions between Macrophages and Biofilm during *Staphylococcus aureus* – Associated Implant Infection: Difficulties and Solutions. J Innate Immun. (1):499-515. <https://doi.org/10.1159/000530385>.

- Liu, Q., W. S. Yeo, T. Bae. 2016. The SaeRS Two-Component System of *Staphylococcus aureus*. *Genes* (Basel). 7(10):81. <https://doi.org/10.3390/genes7100081>
- Marsilio, F., C. E. Di Francesco, B. Di Martino, 2018. Coagulase Positive and Coagulase-Negative Staphylococci Animal Diseases, Pet-To-Man Travelling Staphylococci, Editor Meduri GU, Kanangat S, Stefan J, Tolley E, Schaberg D. 1999. Cytokines IL-1beta, IL-6, and TNF-alpha enhance in vitro growth of bacteria. *Am J Respir Crit Care Med*. 160 (3): 961-7. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.160.3.9807080>
- Menard, G., C. Silard, M. Suriray, A. Rouillon, Y. Augagneur. 2022. Thirty Years of Srna-Mediated Regulation in *Staphylococcus aureus*: From Initial Discoveries to In Vivo Biological Implications. *Int J Mol Sci*. 23(13):7346. <https://doi.org/10.3390/ijms23137346>.
- Mootz, J. M., C. L. Malone, L. N. Shaw, A. R. Horswill. 2013. Staphopains modulate *Staphylococcus aureus* biofilm integrity. *Infect Immun*. 2013 Sep;81(9):3227-38. <https://doi.org/10.1128/IAI.00377-13>
- Morrison, J. M., L. K. Anderson, K. E. Beenken, M. S. Smeltzer, P. M. Dunman. 2012. The staphylococcal accessory regulator, SarA, is an RNA-binding protein that modulates the Mrna turnover properties of late-exponential and stationary phase *Staphylococcus aureus* cells. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2 (26):1-11. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00026>-
- Nasser A, Moradi M, Jazireian P, Safari H, Alizadeh-Sani M, Pourmand MR, Azimi T. 2019. *Staphylococcus aureus* versus neutrophil: Scrutiny of ancient combat. *Microbial Pathogenesis*, 131, p 259-269. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.04.026>
- Novick, R. P. und E. Geisinger. 2008. Quorum sensing in staphylococci. *Annu Rev Genet*. 42:541-64. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.42.110807.091640>.
- Oliveira C. D.; de Lencastre H. 2002. Multiplex PCR Strategy for Rapid Identification of Structural Types and Variants of the mec Element in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 46(7): 2155–2161. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.7.2155-2161.2002>

- Ortega, S. y E. Hernández, E. 2018. Biopelículas microbianas y su impacto en áreas médicas: fisiopatología, diagnóstico y tratamiento. Boletín Médico del Hospital Infantil de México, 75(2), 79-88. <https://doi.org/10.24875/bmhim.m18000012>
- Oriol, C., L. Cengher, A. C. Manna, T. Mauro, M. Pinel-Marie, B. Felden, A. Cheung, A. Rouillon. 2021. Expanding the *Staphylococcus aureus* SarA Regulon to Small RNAs. MSystems 6:10.1128/msystems.00713-21. <https://doi.org/10.1128/msystems.00713-21>
- Patel, H. y S. Rawat. 2023. A genetic regulatory see-saw of biofilm and virulence in MRSA pathogenesis. Front Microbiol. 14:1204428. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1204428>.
- Pasachova, G. J., S. M. Ramírez y M. L. Molina. 2019. *Staphylococcus aureus*: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. REVISTA NOVA, 17(32), 25-38. <https://doi.org/10.25058/24629448.3631>
- Peng, Q., X. Tang, W. Dong, N. Sun, W. A. Yuan. 2022. Review of Biofilm Formation of *Staphylococcus aureus* and Its Regulation Mechanism. Antibiotics (Basel). 12(1):12. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12010012>
- Pereyra, E. A. L., B. E. Dallard, L. F. Calvino. 2014. Aspectos de la respuesta inmune innata en las infecciones intramamarias causadas por *Staphylococcus aureus* en bovinos, Revista Argentina de Microbiología, 46 (4): 363-375. [https://doi.org/10.1016/S0325-7541\(14\)70096-3](https://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70096-3)
- Ramírez, A. M., K. E. Beenken, S. D. Byrum, A. J. Tackett, L. N. Shaw, B. D. Gimza, and M. S. Smeltzer. 2020. SarA plays a predominant role in controlling the production of extracellular proteases in the diverse clinical isolates of *Staphylococcus aureus* LAC and UAMS-1. Virulence, 11(1), 1738–1762. <https://doi.org/10.1080/21505594.2020.1855923>
- Ramond, E., A. Lepissier, X. Ding, C. Bouvier, X. Tan, D. Euphrasie, P. Monbernard, M. Dupuis, B. Saubaméa, I. Nemazanyy, X. Nassif, A. Ferroni, Sermet, Gaudelus, I., Charbit, A., Coureuil, M. y Jamet, A. 2022. Lung-Adapted *Staphylococcus aureus* Isolates with Dysfunctional Agr System Trigger a Proinflammatory Response. The Journal of Infectious Diseases, 226(7), 276 1285. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiac191>

- Rasigade, J.P. y F. Vandenesch. 2014. *Staphylococcus aureus*: a pathogen with still unresolved issues. Infect Genet Evol. 21:510-4. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.08.018>
- Reyes, D., D. O. Andrey, A. Monod, W. L. Kelley, G. Zhang, A. L. Cheung. 2011. Coordinated regulation by AgrA, SarA, and SarR to control agr expression in *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol 193:6020–6031. <https://doi.org/10.1128/JB.05436-11>.
- Schilcher, K. y A. Horswill, A. 2020. Staphylococcal Biofilm Development: Structure, Regulation, and Treatment Strategies. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 84(3). <https://doi.org/10.1128/MMBR.00026-19>.
- Schulthess, B., D. A. Bloes, P. Francois, M. Girard, J. Schrenzel, M. Bischoff, et al. 2011. The sigmaB-dependent yabJ-spoVG operon is involved in the regulation of extracellular nuclease, lipase, and protease expression in *Staphylococcus aureus*. Journal of Bacteriology, 193(18), 4954–4962. <https://doi.org/10.1128/JB.05362-11>.
- Supa-Amornkul, S., P. Mongkolsuk, P. Summpunn, P. Chaiyakunvat, W. Navaratdusit, C. Jarpinitnun, S. Chaturongakul. 2019. Alternative Sigma Factor B in Bovine Mastitis-Causing *Staphylococcus aureus*: Characterization of Its Role in Biofilm Formation, Resistance to Hydrogen Peroxide Stress, and Regulon Members. Front Microbiol. 10:2493. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02493>
- Senn, M.M., P. Giachino, D. Homerova, A. Steinhuber, J. Strassner, J. Kormanec, U. Flückiger, B. Berger-Bächi, M. Bischoff. 2005. Molecular analysis and organization of the sigmaB operon in *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol. (23):8006-19. <https://doi.org/10.1128/JB.187.23.8006-8019.2005>
- Tan, L., S. R. Li, B. Jiang, X. M. Hu, S. Li. 2018. Therapeutic Targeting of the *Staphylococcus aureus* Accessory Gene Regulator (agr) System. Front Microbiol. 9:55. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00055>
- Touaitia, R., Mairi, A., Ibrahim, N. A., Basher, N. S., Idres, T., & Touati, A. 2025. *Staphylococcus aureus*: A Review of the Pathogenesis and Virulence Mechanisms. Antibiotics, 14(5), 470. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14050470>

Taylor, T.A. y C. G. Unakal. 2024. *Staphylococcus aureus* Infection. [Updated 2023 Jul 17]. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>

Thoendel, M. Kavanaugh J.S., Flack C.E., Horswill A.R. 2011. Peptide signaling in the staphylococci. Chem Rev 111:117–151. <https://doi.org/10.1021/cr100370n>

Tremmel, G. J. 2021. Potencial utilización de fosfatos como antimicrobianos en la industria láctea [Tesis de especialidad, Universidad Nacional del Litoral]. Repositorio Biblioteca Virtual UNL. <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/handle/11185/6388Van>

Uehara Y. 2022. Current Status of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*). Antibiotics (Basel). 11 (1): 86. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010086>

Valle, J., A. Toledo-Arana, C. Berasain, J. M. Ghigo, B. Amorena, J. R. Penades y I. Lasa. 2003. SarA and not Σ b is essential for biofilm development by *Staphylococcus aureus*. Mol. Microbiol. 48:1075-1087. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03493.x>

Van Roy Z, Kielian T. 2025. Immune-based strategies for the treatment of biofilm infections. Biofilm 9:100264. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2025.100264>

Wang, X. H., J. Shen, W. Wang, Y. Ye, J. Yu, T. Xue. 2022. Alternative sigma factor B reduces biofilm formation and stress response in milk-derived *Staphylococcus aureus*, LWT. 162:113515, ISSN 0023-6438, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113515>

Williams, P., K. Winzer, W. C. Chan, M. Cámara. 2007. Look who's talking: communication and quorum sensing in the bacterial world. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 362(1483):1119-34. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2039>

Wu, S., H. de Lencastre, A. Tomasz. 1996. Sigma-B, a putative operon encoding alternate sigma factor of *Staphylococcus aureus* RNA polymerase: molecular cloning and DNA sequencing. J Bacteriol. 178(20):6036-42. <https://doi.org/10.1128/jb.178.20.6036-6042.1996>.

Yuan, L., Q. Liu, L. Xu, B. Wu, Y. Feng. 2024. Structural basis of promoter recognition by *Staphylococcus aureus* RNA polymerase. Nat Commun. 15(1):4850. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-49229-6>.

Zavala-Hernández A. N., Valdez-Alarcón J.J., 2024. Mis microorganismos y yo. Un dialogo constante. Saber más - UMSNH. 13 (73): 43-47. <https://www.sabermas.umich.mx/archivo/articulos/658-numero-73/1358-mis-microorganismos-y-yo-un-dialogo-constante.html>

Zavala-Hernández AN., Salto-Reyes C, Bravo-Patiño A, Baizabal-Aguirre VM. and Valdez-Alarcón JJ. 2025. IL-1 β , TNF- α , and IL-10 reduce cell viability and differentially alter biofilm structure and gene expression levels in *Staphylococcus aureus* USA 300. Front. Immunol. 16:1665397. doi: 10.3389/fimmu.2025.1665397.

Zendejas, G. S., H. Avalos y M. Y., Soto. 2014. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. Revista Biomédica, 25(3): 129-143. <https://www.revistabiomedica.mx/index.php/revbiomed/article/view/42/54>

Zhang, J.M., J. An. 2007. Cytokines, inflammation, and pain. Int Anesthesiol Clin. Spring. 45(2):27-37. <https://doi.org/10.1097/AIA.0b013e318034194e>.

Zurek, O. W., T. K. Nygaard, R. L. Watkins, K. B. Pallister, V. J. Torres, A. R. Horswill, J.M. Voyich. 2014. The role of innate immunity in promoting SaeR/S-mediated virulence in *Staphylococcus aureus*. J. Innate Immunity 6, 21–30. <https://doi.org/10.1159/000351200>

Adriana Noemí Zavala Hernández

MECANISMOS DE REGULACIÓN ASOCIADOS A LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS EN Staphylococcus aureus E...

 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::3117:538109153

Fecha de entrega

8 dic 2025, 12:17 p.m. GMT-6

Fecha de descarga

8 dic 2025, 12:26 p.m. GMT-6

Nombre del archivo

MECANISMOS DE REGULACIÓN ASOCIADOS A LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS EN Staphylococc.....pdf

Tamaño del archivo

932.2 KB

77 páginas

23.270 palabras

130.447 caracteres

21% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Fuentes principales

- 20%  Fuentes de Internet
- 18%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**
48 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
Programa educativo	Programa Institucional de Doctorado en Ciencias Biológicas de la UMSNH	
Título del trabajo	Mecanismos de regulación asociados a la formación de biopelículas en <i>S. aureus</i> en respuesta a señales inmunomoduladoras del hospedero	
	Nombre	Correo electrónico
Autor/es	Adriana Noemí Zavala Hernández	adriana.zavala@umich.mx
Director	Dr. Juan José Valdez Alarcón	jose.alarcon@umich.mx
Codirector		
Coordinador del programa	Dr. Rodolfo Pérez Rodríguez	alejandro.bravo@umich.mx

Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Asistencia en la redacción		

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Traducción al español		
Traducción a otra lengua	si	Traductor en línea, para el abstract
Revisión y corrección de estilo	si	Corrector ortográfico
Análisis de datos		
Búsqueda y organización de información		
Formateo de las referencias bibliográficas		
Generación de contenido multimedia		
Otro	si	Para verificar el plagio del documento

Datos del solicitante	
Nombre y firma	Adriana Noemí Zavala Hernández 
Lugar y fecha	Morelia, Michoacán a 06 de diciembre de 2025