López - Giayetto - Cannistraci - Biganzoli
Peirotti - González - Ferreyra - Cuevas
Sienko - Kiguen - Lazzarino - Isa- Nates
Littvik-Pavan

TRAS LAS HUELLAS DE UN MUNDO INVISIBLE

EDICIÓN DIGITAL 2019

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE INFECCIONES BACTERIANAS Y VIRALES

ISBN 978-987-86-2751-9

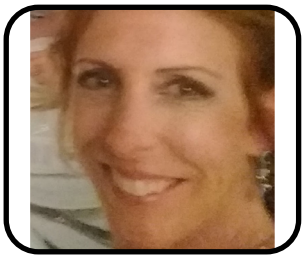
AUTORES

Teresa López
Médica Cirujana. Especilista en Microbiología Clínica del Consejo de Médicos de la Provincia de Córdoba. Jefa de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Bacteriología y Virología Médicas. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Microbióloga del Laboratorio de Microbiología del Hospital Rawson. Córdoba.

Víctor O. Giayetto
Magíster en Microbiología. Profesor Titular. Cátedra de Microbiología y Parasitología. Carrera de Medicina. IAPCH. Universidad Nacional Villa María. Profesor Titular. Cátedra de Microbiología y Bioseguridad. Carrera Lic. en Instrumentación Quirúrgica. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Católica de Córdoba. Profesor Adjunto: Cátedra de Microbiología. Carrera de Medicina. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Catòlica de Córdoba.

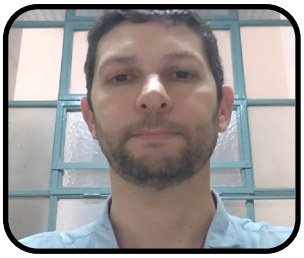
Roxana Cannistraci
Doctora en Medicina y Cirugía, UNC. Profesora adjunta de la Cátedra de Bacteriología y Virología Médicas, Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Especilista en Microbiología Clínica del Consejo de Médicos de la Provincia de Córdoba. Microbióloga del Hospital Maternidad Provincial Córdoba.

Patricia Biganzoli
Médica Cirujana. Especialista en Microbiología Clínica del Consejo de Médicos de la Provincia de Córdoba. Doctora en Medicina y Cirugía. Profesora Adjunta de la Cátedra de Bacteriología y Virología Médicas. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.



Maria Gabriela Peirotti
Médica. Especialista en Microbiología Clínica del Consejo de Médicos de la provincia de Córdoba. Jefa de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Bacteriología y Virología Médicas. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.

Silvia González
Médica Cirujana. Especilista en Microbiología Clínica del Consejo de Médicos de la Provincia de Córdoba. Microbióloga del Laboratorio de Microbiología del Hospital Rawson. Córdoba.



Leonardo J. Ferreyra
Licenciado en Bioquímica. Especialista en Virologia. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Córdoba. Doctor en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Córdoba. Integrante del laboratorio de Herpesvirus Linfotrópicos humanos del Instituto de Virología "J.M. Vanella". Profesor Adjunto de la Cátedra de Bacteriología y Virología Médicas. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.

Veronica Cuevas
Técnica en Laboratorio Clínico e Histopatología. Profesora Asistente Cátedra de Bacteriologia y Virologia Médica Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Diplomada en Bacteriología Clínica Universidad Siglo 21.

Gabriela Sienko
Microbióloga, Técnica de Laboratorio Universidad Nacional Río Cuarto. Laboratorio Sección Bacteriología Hospital Materno Provincial. Profesora Asistente Cátedra de Bacteriologia y Virologia Médica Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.

Ximena Kiguen
Médica Cirujana. Especialista en Microbiología Clínica del Consejo de Médicos de la Provincia de Córdoba. Doctora en Medicina y Cirugía. Profesor Asistente en el Laboratorio de Chlamydias y HPV del Instituto de Virología Dr JM Vanella y Cátedra de Bacteriología y Virología Médica. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.

Julia Lazzarino
Médica Cirujana. Especialista en Microbiología Clínica del Consejo de Médicos de la Provincia de Córdoba. Jefa de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Bacteriología y Virología Médicas. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Microbióloga del Laboratorio de Microbiología del Hospital Rawson de Córdoba.

María Beatriz Isa
Magister en Ciencias Químicas. Especialista en Virología. Facultad de Ciencias Quìmicas. Universidad Nacional de Córdoba. Prof Asistente del Instituto de Virología “Dr. J.M. Vanella”. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.

Silvia Nates
Dra. en Ciencias Químicas. Profesora titular dedicación exclusiva. Categoría docente Investigador I. Directora del Instituto de Virología “Dr. J.M. Vanella”. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.

Ana Littvik
Médica cirujana. Dra. en Medicina y Cirugía. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Especialista en Microbiología Clínica. Consejo de Médicos de la Provincia de Córdoba.

Jorge V. Pavan
Profesor Titular Plenario de la Cátedra de Bacteriología y Virología Médicas. Vicedirector Instituto de Virología “Dr JM Vanella” y Jefe del Laboratorio de Herpesvirus Linfotrópicos Humanos. Facultad de Ciencias Médicas. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.

PRÓLOGO

Escribir siempre es un desafío. Para aquellos que tienen el don o la creatividad de hacerlo y para los que hemos elegido la docencia como nuestra vida cotidiana. Años de trabajo se hacen realidad a través de sus páginas. Años de leer, buscar, reformular, escribir, cambiar, discutir y corregir. Años de transitar por las aulas en la búsqueda de un mejor camino para la enseñanza. En estos años, escribimos y reescribimos este libro que acerca al estudiante de medicina a la "Bacteriología y Virología Médicas", como a nosotros nos hubiera gustado que nos las contaran.

Transmitir el conocimiento es una fascinación de muchos y hemos intentado ponerlo en palabras. Palabras prestadas y ajenas; palabras de la propia experiencia, del andar y desandar caminos en busca de ese desafío.

El resultado final es este libro cuyo título: Tras las Huellas de un Mundo Invisible; tiene un significado: Huellas, que los que hemos elegido la Bacteriología y la Virología, seguimos día a día; intentando recomponer un mundo invisible, en la búsqueda de acercar-nos a una realidad que se nos muestra esquiva, minúscula. Aquel mismo mundo que en el siglo XIX desveló a muchos grandes de la Ciencia. Koch, Pasteur, Löeffler, son los nombres que resuenan siempre que cobra vida la palabra animalículo, germen, microbio. Una vida minúscula, que logra insertarse en el conocimiento científico gracias al estudio, la dedicación, la perseverancia de estos hombres.

El legado es inmenso; desde el descubrimiento del microscopio a las técnicas más sofisticadas de la biología molecular; desde las grandes pandemias al descubrimiento de nuevas vacunas y recursos terapéuticos.

Y allí está, el estudiante de medicina intentando organizar sus ideas y comprender este difícil mundo microbiano. Y en el medio, nosotros; intentando que nuestros estudiantes lo aprendan, lo tomen, lo analicen, lo hagan propio.

Tras las Huellas de un Mundo Invisible es un camino, un modo de llegar al conocimiento de una manera simple, sin descuidar lo riguroso del mismo.

En esta nueva edición, quisimos hacernos un regalo. Ese regalo es sentirnos conformes con el camino recorrido y lograr que este manual llegue a las manos de quienes son los destinatarios desinteresadamente. Así es que Tras las Huellas de un Mundo Invisible se transforma en si mismo en nuestro regalo.

Los autores.

INDICE

CAPÍTULO 1
Un entramado hitórico que aún se está hilvanando....8
CAPÍTULO 2
El laboratorio de microbiología en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas....17
CAPÍTULO 3
Célula bacteriana: estructura, morfología y funciones....26
CAPÍTULO 4
Factores de virulencia bacterianos....34
CAPÍTULO 5
Fisiología bacteriana....42
CAPÍTULO 6
Acción de los agentes fisicos y químicos en los microorganismos....46
CAPÍTULO 7
Microbiota y microbioma....56
CAPÍTULO 8
Medios de cultivo....61
CAPÍTULO 9
Genética bacteriana....64
CAPÍTULO 1O
Resistencia bacteriana a drogas antimicrobianas y pruebas de sensibilidad....71
CAPÍTULO 11
Infecciones bucodentales....84
CAPÍTULO 12
Infecciones respiratorias altas....90
CAPÍTULO 13
Neuroinfecciones....103
CAPÍTULO 14
Infecciones respiratorias bajas....110
CAPÍTULO 15
Infecciones oculares....135
CAPÍTULO 16
Infecciones del tracto urinario....145
CAPÍTULO 17
Infecciones de transmisión sexual....152
CAPÍTULO 18
Infecciones congénitas y perinatales....165
CAPÍTULO 19
Diarreas infecciosas y toxinfecciones alimentarias....174
CAPÍTULO 20
Bacteriemias....196
CAPÍTULO 21
Fiebres hemorrágicas virales....204
CAPÍTULO 22
Infecciones cutáneo-mucosas....208
CAPÍTULO 23
Lepra....214

CAPÍTULO 24
Infecciones osteoarticulares.....219
CAPÍTULO 25
Infecciones asociadas al cuidado de la salud.....223
CAPÍTULO 26
Zoonosis.....229
CAPÍTULO 27
Enfermedades emergentes y reemergentes.....257
CAPÍTULO 28
Vacunas.....263
CAPÍTULO 29
Bioseguridad.....276
CAPÍTULO 30
Bacterias y virus de importancia en patología médica.....281
BIBLIOGRAFÍA GENERAL.....319

Capítulo 1

Un entramado histórico que aún se está hilvanando

Le invitamos a trasladarse a un viaje imaginario a través del tiempo, con la intención de descubrir los eventos más importantes que marcan el quehacer científico de esta disciplina.

El período neolítico tiene como características principales el desarrollo de la agricultura y ganadería, alfarería, arte, danzas rituales, la domesticación de ciertos animales, consolidación del sedentarismo y la implementación de ejércitos. Fue así que durante la revolución agrícola del neolítico comenzamos con un momento histórico sustentado básicamente por lo especulativo y empírico, promovido en la necesidad de satisfacer las necesidades básicas del ser humano, como por ejemplo, la elaboración del pan, del vino, del queso, yogur y kéfir (6000 a 3000 años AC). En diversos papiros egipcios (3000 AC) aparecen instrucciones para la preparación del vino, la cerveza y la masa del pan. La conservación de alimentos mediante el salado y secado, descritas en tribus indígenas, así como en los aztecas.

Sin embargo, ya el hombre comienza a percatarse de lo efímero, precario y temporal de su existencia y con dolor incorpora a la enfermedad y la muerte. Contemplando como desaparecen sus semejantes, a veces masivamente presos de una circunstancia incomprendida, los chinos utilizan la variolización con material seco de lesiones secas de viruela; esta última práctica, se extendió por las rutas comerciales y fue aceptada en medio Oriente.

Quizás la primera prueba documentada de una infección microbiana, consiste en un bajorrelieve encontrado en la ciudad egipcia de Menfis (3700 años AC), que muestra a un sacerdote del templo llamado Ruma con signos de parálisis poliomielítica (Fig 1).

En nuestro viaje imaginario por pueblos antiguos encontramos la creencia arraigada del origen sobrenatural de la enfermedad y de la muerte, cubiertas de un manto de misterio, ante las cuales solo atinan especulativamente a calmar con ofrendas y sacrificios de bestias o humanos, la ira de sus divinidades. No obstante, ciertas civilizaciones como la egipcia parecen tener una vaga noción de la transmisibilidad de las enfermedades; y ciertamente son los hebreos, ya en tiempos de Moisés, quienes creen que la lepra es altamente contagiosa, adoptando como prevención

Fig 1. Bajorrelieve encontrado en Menfis

la marginación de los individuos enfermos. Consideraban necesarios periodos de purificación, como idea pragmática de prevención de enfermedades, o posteriores a su curación, hechos de estricta vigilancia por parte de los sacerdotes. Así hallamos en la Biblia, en el Levítico, quinto libro del Pentateuco, una serie de prescripciones de prácticas higiénicas, establecidas a fin de "preservar la salud física".

Levítico 13:1-3

13 El Señor les dijo a Moisés y a Aarón: 2 «Si alguien tiene una hinchazón, una erupción o una decoloración de la piel que pueda convertirse en una enfermedad grave de la piel,[a] esa persona debe ser llevada al sacerdote Aarón, o a uno de sus hijos.[b] 3 El sacerdote examinará la zona afectada de la piel, y si el vello de la zona afectada se ha vuelto blanco y el problema parece estar más profundo que la piel, esta es una enfermedad cutánea grave, y el sacerdote que la examina debe declarar a la persona ceremonialmente impura.

a. 13:2a Tradicionalmente se traduce lepra. El término hebreo empleado en todo este pasaje se usa para describir diversas enfermedades de la piel.

b. 13:2b O uno de sus descendientes

Mientras tanto, las primeras ideas sobre el origen de las enfermedades y de la vida se hilvanan con la teoría de la generación espontánea; que sostenía que ciertas formas de vida (animal y vegetal) surgen de manera espontánea a partir de materia orgánica, inorgánica o de una combinación de las mismas.

Se trataba de una creencia profundamente arraigada desde la Antigüedad, ya que fue descrita por Aristóteles, luego sustentada y admitida por pensadores de los siglos XVII y XVIII como René Descartes, Francis

Bacon o Isaac Newton.

Sin embargo, desandando éste caminar virtual, ya en el 430 a.c. Tucídides, manifiesta su convicción acerca de que ciertas epidemias eran contagiosas.

En general, la medicina de la época de Hipócrates desconocía muchos aspectos de la anatomía y la fisiología humanas, a causa del tabú griego que prohibía la disección de cadáveres. Hipócrates, por su parte rechaza la teoría del origen divino de las enfermedades. La escuela hipocrática sostenía que la enfermedad era el resultado de un desequilibrio en el cuerpo de los cuatro humores, unos fluidos que en las personas sanas se encontraban naturalmente en una proporción semejante. Cuando los cuatro humores (sangre, bilis negra, bilis amarilla y flema) se desequilibraban (dyscrasia, mala mezcla), el individuo enfermaba y permanecía enfermo hasta que se recuperaba el equilibrio. La terapia hipocrática se concentraba en restaurar este equilibrio. Por ejemplo, se creía que tomar cítricos era beneficioso cuando había un exceso de flema.

A grandes pasos se acerca a la edad media, donde renacen las especulaciones aristotélicas, y así se oye hablar de "influenza" o "malaria". La peste bubónica fue una enfermedad que se extendió por toda Europa entre los años 900 y 1500. En 1348 la "muerte negra" produjo la muerte de gran parte de la población europea. De hecho, para frenar esta epidemia se habilitó en Venecia un hospital en que durante 40 días (cuarentena) se aislaban a los viajeros de las zonas afectadas.

Girolamo Frascatorius, un monje de la provincia de Venecia, en su libro " De contagione et contagiosis morbis " (1546) refiere que las enfermedades contagiosas se deben a "gérmenes vivos" que pasan de diversas maneras de un individuo a otro, sin poder caracterizarlos; el microscopio aún no había aparecido (Fig 2 y 3). Estos inicios de explicación que renunciaban a invocar causas sobrenaturales fueron probablemente catalizados por la introducción en Europa de la sífilis, una enfermedad en la que estaba clara la necesidad de contacto para su contagio. Pero la "cosa" que se transmite en la enfermedad siguió siendo objeto de conjeturas durante mucho tiempo.

En 1595, Zacharías Janssen de nacionalidad holandesa, fabricante de lentes desarrolla el primer microscopio simple, con una lente y compuesto con dos lentes (Fig 4).

Roberto Hooke, 100 años después, aplica la microscopía para las observaciones hechas con el microscopio. De este modo publica por primera vez la

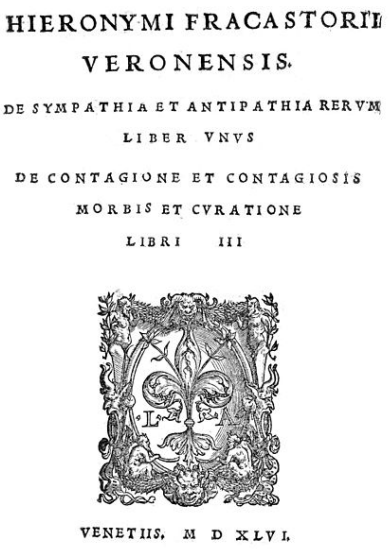

HIERONYMI FRACASTORII
VERONENSIS.
DE SYMPATHIA ET ANTIPATHIA RERVM
LIBER VNVS
DE CONTAGIONE ET CONTAGIOSIS
MORBIS ET CVRATIONE
LIBRI III
VENETIIS, M D XLVI.

Fig 2. De contagione et contigiosis morbis et curatione. Fracastorius Veronese

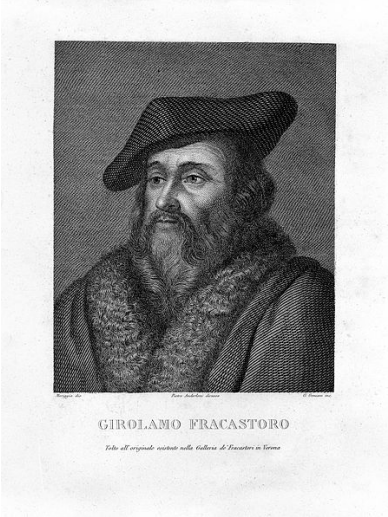
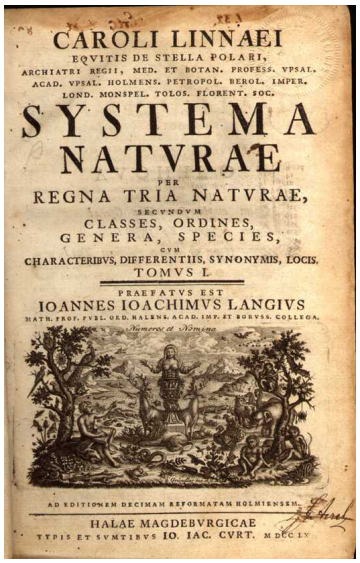


Fig 3 Dibujo de Girolamo Fracastorio

imagen de un microorganismo, un hongo filamentoso perteneciente a la familia Mucoraceae (Fig 4).

Fig 4. Imagen de un hongo filamentoso por Robert Hooke, 1665. Publicado in Micrographia.

Para comienzos del siglo XVI son muchos los que tratan de superarse en la fabricación de aparatos ópticos de aumento, destacándose Anthony Van Leeuwenhoeck, hombre relacionado con el comercio de telas, danés de Delf, quien en 1676 usando diversas combinaciones de lentes observa, dibuja e informa de los hallazgos a la Sociedad Real de Londres, la que lo publica en su acta Nº 33 de 1677 por primera vez y años después en posteriores informes. En todas ellas se muestran las hoy conocidas formas elementales de bacterias, así como esquemas de los aparatos que usó; todo esto le hizo merecedor al reconocimiento de ser "el primero en observar las bacterias"; pero sus exámenes eran muy simples, de poca resolución y sin colorear. Tampoco relacionó estas bacterias con enfermedades, era un hilo de una madeja aún sin hilvanar.


CAROLI LINNAEI
EQVITIS DE STELLA POLARI,
ARCHIATRI REGII, MED. ET BOTAN. PROFESS. VPSAL.
ACAD. VPSAL. HOLMENS. PETROPOL. BEROL. IMPER.
LOND. MONSPEL. TOLOS. FLORENT. SOC.
SYSTEMA
NATVRAE
PER
REGNA TRIA NATVRAE,
SECVNDVM
CLASSES, ORDINES,
GENERA, SPECIES,
CVM
CHARACTERIBVS, DIFFERENTIIS, SYNONYMIS, LOCIS.
TOMVS I.
PRAEFATVS EST
IOANNES IOACHIMVS LANGIVS
MATH. PROF. FVEL. ORD. HALENS. ACAD. IMP. ET BOEVSS. COLLEGA.
AD EDITIONEM DECIMAM REFORMATAM HOLMIENSEM.
HALAE MAGDEBVRGICAE
TYPIS ET SVMTIBVS IO. IAC. CVRT. MDCCIX

Publicación de Linneo

Las formas de vida no estaban aún clasificadas y el primero en intentar una clasificación, fue Linneo (1760), en su "Systema Naturae" (Fig 6) mucho después de Leeuwenhoeck con sus "animalículos", fue Cohn y luego Nägeli quienes le dieran sentido botánico a la misma.

con gasas, evitando que las moscas depositaran allí los huevos: éstas no se desarrollaban.

Esto debería haber concluido con la cuestión, vale decir que la vida procede de la vida, pero en realidad solo acabó con la teoría de la generación espontánea macroscópica, en efecto, sus defensores no se rindie-

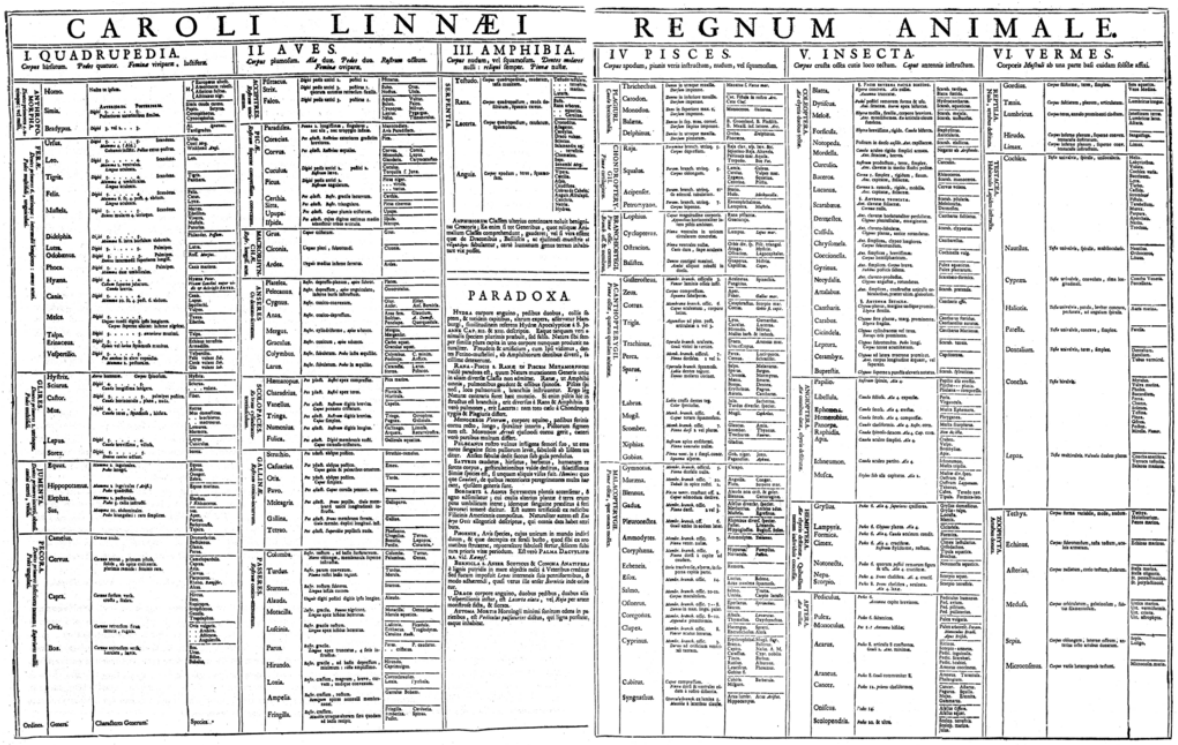

CAROLI LINNÆI
REGNUM ANIMALE.
I. QUADRUPEDIA.
II. AVES.
III. AMPHIBIA.
IV. PISCES.
V. INSECTA.
VI. VERMES.
PARADOXA.

Fig 6. Clasificación de Linneo en su libro

Francisco Redi, hizo su aporte contra la generación espontánea, poco después de la mitad del siglo XVII, quien descubre y prueba que los gusanos que aparecían en la carne descompuesta se desarrollaban de huevos de moscas y que, protegiendo a la carne

ron y siguieron creyendo y sustentando la generación espontánea microscópica. En este largo período de tiempo diferentes teorías y pensadores daban cuenta de argumentos antagónicos que circulaban en distintos espacios y tiempos, que a menudo no se

comunicaban.

La inoculación artificial de un agente infeccioso de virulencia reducida para lograr la protección contra enfermedad natural, se inició con los trabajos del médico Edward Jenner (1749-1823), quien observó la rareza de contraer viruela en las ordeñadoras de animales infectados con la "viruela de la vaca" o "vacuna".

El 14 de mayo del año 1796, Edward Jenner realizó la primera inoculación contra la viruela. James Phipps, un niño de ocho años (hijo de su jardinero), fue el primer inoculado con secreción recogida de una pústula vacuna (viruela de vacas: virus vaccinia) en la mano de una lechera que se había infectado durante un ordeño. El primero de julio siguiente inoculó de nuevo al pequeño, esa vez con pus procedente de una persona enferma de viruela (Fig 7). El niño no se enfermó, con lo cual se demostró la acción profiláctica de la inoculación contra la viruela humana. También lo hizo con su hijo (Fig 8)

Fig 7. Pintura de Gaston Melingue 1879 (Academie Nationale de Medecine, Paris, que muestra la vacunación de James Phipps, 1796

Fig 8. Edward Jenner vacunando a su hijo, quien es sostenido por su esposa. Pintura de Edouard Jean Conrad Hamman (1819-1888). Wellcome Image.

En una caricatura de principios del siglo XIX (Fig 9), se dibuja a los vacunados en quienes les crecen segmentos vacunos en sus cuerpos, lo que da cuenta de los imaginarios de la época.

Fig 9. Gillray J. The Cow Pock, Wellcome Library, London. 1802.

La esterilización de medios y material de vidrio es de esencial importancia para la práctica microbiológica. Basta pensar que durante la controversia acerca de la generación espontánea comienzan a usarse la ebullición y el flameado por Spallanzani y Schwann (Siglo XVIII), tratando de eliminar con los mismos toda forma de vida, para demostrar posteriormente la ausencia de desarrollo a partir de los mismos.

En mayo de 1846, Ignaz Semmelweis describió la presencia de "partículas cadavéricas" en las manos de sus estudiantes que contaminaban luego a las puérperas de su clínica. Fue así como instaló un lavabo en la entrada de la sala de partos para que los estudiantes se laven las manos con soluciones con cloro antes y después de atender a las pacientes (Fig 10). Lo que tuvo un gran impacto en la comunidad médica. Semmelweis desconocía la descripción de las bacterias por Anthony Van Leeuwenhoeck, lo que permite comprender los diferentes hilos que hilvanaron la historia de la microbiología. Muchos de ellos tejidos en distintos contextos que, por dificultades de la época, desconocían y negaban. Baste decir que Semmelweis fue despedido y luego internado en un asilo para enfermos mentales donde fallece. Sin embargo, el trabajo de Semmelweis fue el primer hilo que atravesó la idea de microorganismos y enfermedad.

John Snow (Fig 10) inicia el estudio de las epidemias durante el brote de cólera en Londres en 1854. Describe con detalle las muertes que habían ocurrido en las casas cercanas al pozo de agua de la calle Broad contaminada con materia fecal (Fig 11 y 12).

Fig 10. El lavado de manos

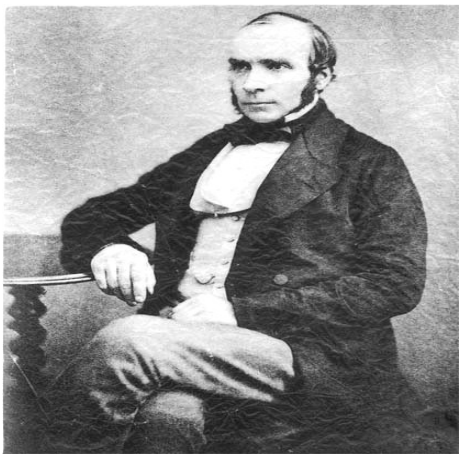


Fig 11. John Snow

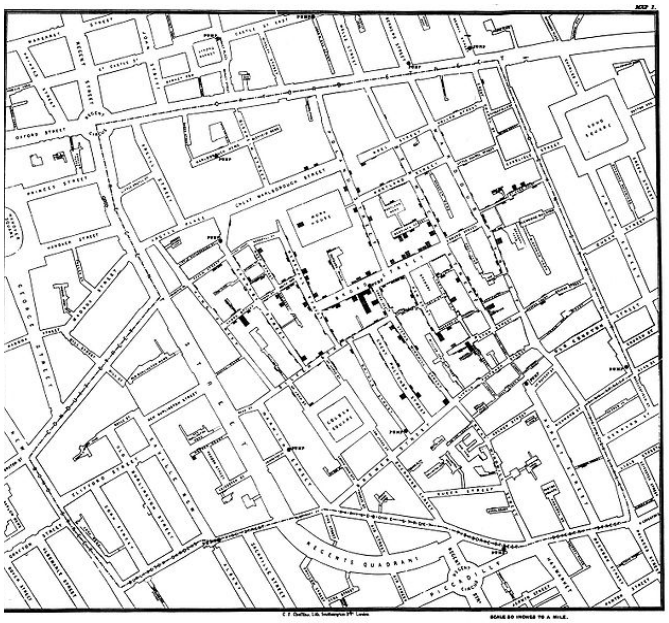


Fig 11. Mapa de Londres con los casos

Fig 12. Foto actual de la bomba de Broad St.

Fue así como un reverendo, Henry Whitehead (Fig 13), quien creía en la teoría miasmática de las enfermedades, inicialmente escéptico del hallazgo de Snow, investigó en detalle el consumo de agua entre residentes de Broad St.

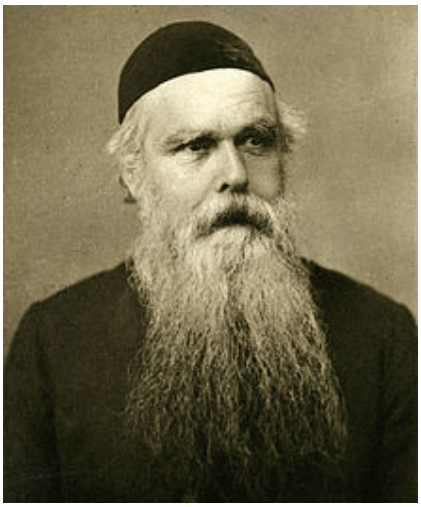


Fig 13. Henry Whitehead

Comenzó preguntando a las familias de muertos por cólera sobre los hábitos de las víctimas y examinó a los sujetos que residiendo en Broad St en septiembre, no hubiesen sufrido de cólera o diarrea. De este modo entrevistó a 336 controles sanos y encontró que 279 no habían usado la bomba y 57 sí.
Fue el primer estudio de casos y controles.

Bomba de Broad St.	Cólera Sí	Cólera No
Si	80	57
No	20	279
		336

Odds radio
80x279/20x57=22320 / 1140= 19,6

Louis Pasteur en 1857 descubre los aspectos científicos de las fermentaciones microbianas (vino, cerveza y quesos). Louis Pasteur realiza una serie de experimentos que demuestran el origen microbiano de los procesos de fermentación láctica, alcohólica. Así también demuestra que sólo puede producirse crecimiento microbiano a partir demicroorganismos preexistentes. El experimento mas contundente de Pasteur y que derrumbó la teoría de la generación espontánea, fue el de los "frascos con cuello de cisnes". Eran matraces cuya boca estaba estirada mediante calor hasta constituirse en un tubo delgado y curvo, con el extremo abierto. Éstos contenían una infusión de material orgánico y llevados a la ebullición, como técnica de desinfección, mantenían a esta infusión con un bajo desarrollo de microorganismos. De este modo, aunque el aire podía penetrar al interior del frasco, las partículas de polvo con los microorganismos del ambiente se quedaban en las paredes curvadas del cuello. Describe microorganismos anaerobio, así como el agente etiológico del carbunco entre otros.

Luis Pasteur

En 1866 Jean Antoine Villemin demuestra que la tuberculosis puede contagiarse, tras inocular material purulento de humanos infectados a conejos de laboratorio. Los experimentos de Villemin llevan a la comunidad médica a plantearse el hecho de que la tuberculosis es una infección específica y que su agente etiológico es transmisible. En 1882 un médico prusiano, Robert Koch, emplea el azul de metileno y lo aplica a muestras de esputo procedentes de pacientes con tuberculosis, revelándose por primera vez el agente causante de la enfermedad: el Mycobacterium tuberculosis, o bacilo de Koch, en su honor. Robert Koch en 1881 emplea el primer medio de cultivo sólido sobre la superficie de una papa cocida. En premio a su esfuerzo diligente y al azar de participar de una cena ofrecida por Fannie Eilshemius, esposa de uno de sus colaboradores Walter Hesse, quien le informó de una sustancia muy usada en repostería por aquellos tiempos, el agar-agar. Ello le permitió solidificar sus medios y aislar colonias.

Luego, en año 1882 Zihel y Neelsen perfeccionarían la tinción para micobacterias. En 1884, Christian Gram durante su viaje a Berlín, diseñó y presentó el método microbiológico de tinción de bacterias que lleva su nombre, refieren algunos que fue para discriminar entre Streptococcus pneumoniae y Klebsiella pneumoniae bacteria. Se compone de yodo, yoduro potásico y agua, y permite teñir determinados elementos por contraste con otros o con el fondo. El método de Gram permitió clasificar a las bacterias en dos tipos fundamentales, Gram positivas y Gram negativas.

La historia comienza a volverse aún más compleja y en este siglo, se hilvanan diferentes historias.

(i) Desde el comienzo del estudio de la etiologia de las enfermedades infecciosas, se constató que parecian existir agentes causales podían transmitir enfermedades, pero que no observarse con el microscopio óptico ni cultivarse fácilmente. Así, las enfermedades infecciosas producidas por virus, se conocían desde hacía mucho tiempo, pero la naturaleza de los agentes causales no fue determinada hasta fines del siglo XX. Los virus fueron descubiertos en 1892, cuando Iwanoski, estudiando una enfermedad de las plantas el "mosaico del tabaco", reconoció su naturaleza infecciosa, ya que el probable agente causal pasaba a través de un filtro fino que retenía los microorganismos hasta entonces conocidos.

Fig 14. Hojas de planta de tabaco infectada por el virus del mosaico de tabaco

Tiempo después se demostraría que la infección viral en los tulipanes les permitía adquirir un efecto de varios colores (Fig 15)

Fig 15. Tulipanes infectados con virus que reprimen la expresión de algunos genes

Simultáneamente Löeffler y Frosch, investigando una enfermedad del ganado bovino, la "fiebre aftosa", comprobaron la filtrabilidad del agente y llegaron a la conclusión de que no se trataba de una sustancia fluida, si no de una partícula pequeñísima, que se reproducía en los animales inoculados. En el año 1900, un agente similar fue descubierto por la comisión del ejército norteamericano bajo la dirección de Walter Reed, estudiando la etiología de la fiebre amarilla.
Agentes similares que producen lisis transmisibles de las bacterias, fueron descubiertos por Tword (1916) y D`Herelle (1917), originando así el concepto que hoy conocemos, de virus de bacterias o "bacteriófagos" (Fig 16).

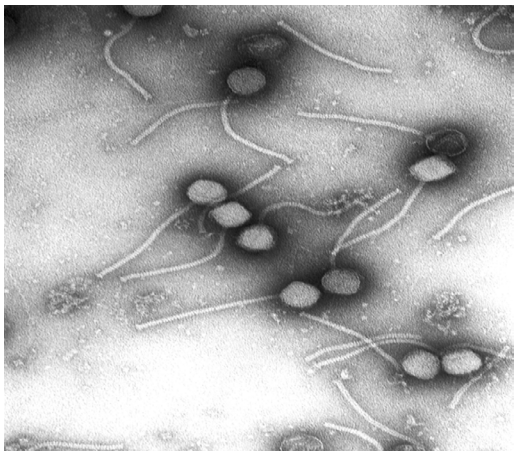


Fig 16. Bacteriófagos

Las dimensiones extraordinariamente pequeñas de los virus, se dedujeron de la imposibilidad de observarlos, así como también de su capacidad de de pasar a través de filtros pequeños.
En 1931, Elford realizó un trabajo de filtración de virus a través de membranas de colodión graduadas de porosidad conocida, estableciendo que poseían características y tamaños diferentes: de 10 a 300 mμ, aproximadamente.
Posteriormente, se estudiaron las modificaciones de la actividad vírica por agentes químicos. Una de ellas permitió en 1935, el aislamiento del virus del mosaico del tabaco, en forma cristalina y alto peso molecular.
Más recientemente (1955-1957), se han obtenido formas cristalinas del virus de la poliomielitis, virus coxsackie y otros. Debido a que los virus necesitan células vivas para su desarrollo y multiplicación, el rápido progreso de la virología, se desarrolló recién en los últimos años cuando se dispuso de líneas celulares continuas (HeLa fig 17, Vero, entre otras).

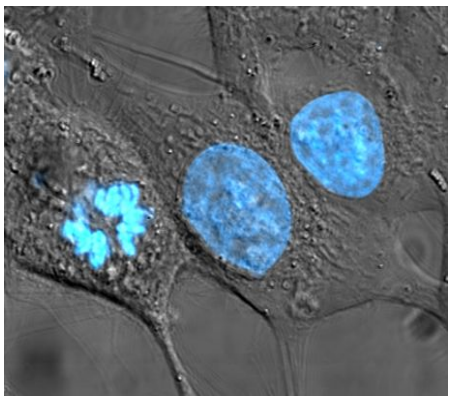


Fig 17. Células HeLa

(ii) A pesar de que el empleo de sustancias químicas, para el tratamiento de las enfermedades infecciosas se inició hace mucho tiempo, el verdadero precursor de la quimioterapia fue Paúl Ehrlich, compañero de Koch en 1891, quien consideró que para que una sustancia pudiera ejercer su acción, debería fijarse químicamente sobre las células del organismo o del agente patógeno. Esto le llevó a buscar sustancias con capacidad de fijación selectiva; así el "salvarsan", un compuesto arsenical, fue utilizado para tratamiento de la sífilis.
Aproximadamente treinta años después, Domagk estudió varias sustancias producidas por la industria de los colorantes alemana y descubrió al "prontosil", efectivo contra las infecciones estreptocócicas. Esto dio lugar, por sustitución de diversos radicales, al aislamiento de numerosos compuestos semejantes que

se conocen con el nombre genérico de "sulfamidas". Luego demostró que la acción de las sulfamidas era inhibida por el ácido p-aminobenzoico (PABA), sustancia esencial en el metabolismo de algunas bacterias y se concluyó que las sulfamidas inhiben la utilización de aquel ácido y así interrumpen el crecimiento de algunas bacterias. Otro tipo de agente antimicrobiano, es una sustancia natural, por lo general de origen microbiano: los antibióticos. Alexander Fleming, descubrió la penicilina en 1929 por un error corriente de laboratorio: La aparición de un hongo contaminante (Penicillium notatum) en un cultivo en placa de estafilococos; observando que las colonias de estos en la vecindad del hongo contaminante no desarrollaban (Fig 18).

Fig 18. Desarrollo de Penicilium spp. en mandarinas

Luego encontró que los cultivos del caldo de este hongo, contenían una sustancia (la penicilina) que inhibía el crecimiento de estafilococos y otras bacterias, inocua para el hospedero ya que carecía de la estructura blanco.

Muy poco se hizo con la penicilina hasta la segunda guerra mundial cuando se demostró su eficacia como agente quimioterápico y se industrializó en gran escala en Estados Unidos. Esto fue el comienzo de una nueva era en medicina: La era de los antibióticos.

En 1943 Waksman descubrió la estreptomicina; posteriormente se aislaron el cloranfenicol y las tetraciclinas y desde entonces, muchos de los antibió ticos que hoy se usan.

Existen motivos suficientes para pensar que en el futuro, se habrán de aislar nuevos antibióticos más eficaces y por los indiscutibles resultados obtenidos con esta terapéutica, se puede decir que el descubrimiento de Fleming, constituyó un verdadero hito en la historia de la medicina.

(iii) La escuela de Bordet y Ehrlich, además explicaba la inmunidad en base a ciertas sustancias solubles de la sangre, que luego dio origen a la inmunidad humoral (Fig 19, actual).

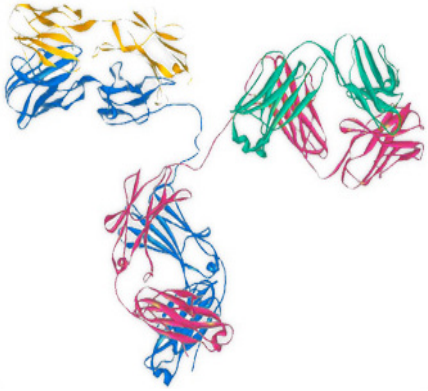


Fig 19. Inmunoglobulinas

Por otra parte Elie Metchnikoff desarrollaba la teoría celular de la inmunidad, al descubrir la fagocitosis (Fig 20, actual).

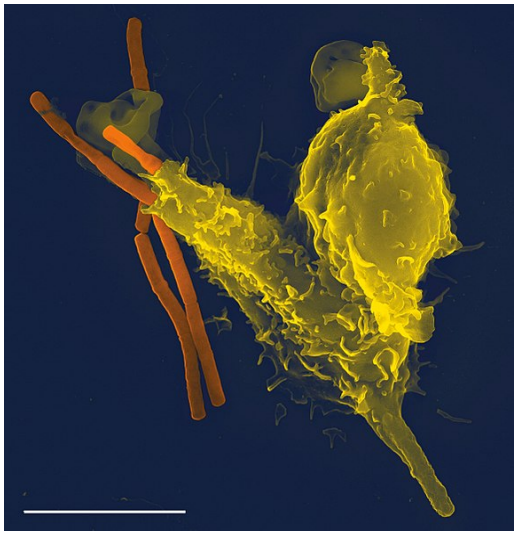


Fig 20. Neutrófilos fagocitando Bacillus anthracis

Aparecerán secuencialmente grandes inventos como, el microscopio de luz ultravioleta (en 1919 por August Köler y Moritz van Rohr), el de contraste de fases (1953 por Fritz Zernicke, permite visualizar células en fresco, vivas sin tinción) y el microscopio electrónico (en 1931 por Ernest Ruska y Max Knoll) , que permitirán para fines del siglo XX, el reconocimiento de toda la morfología bacteriana (Fig 21).

Hasta hace unas pocas décadas, era razonable pensar que se iba a lograr muy pronto el control de la mayoría de enfermedades infecciosas. Grandes figuras

de la medicina, Gregorio Marañón entre ellas, habían llegado a prometer a mediados de siglo xx que las enfermedades infecciosas acabarían desapareciendo prácticamente de los libros de texto.

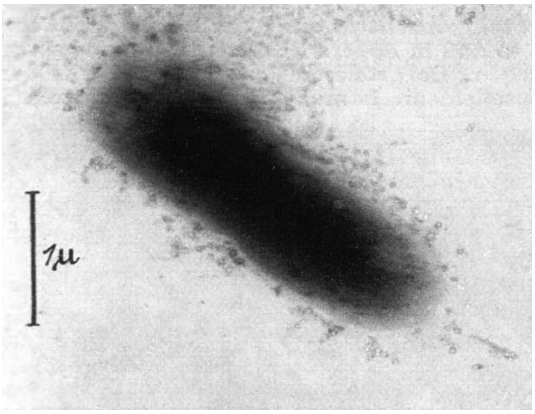


Fig 21. Ruska H. Visualization of bacteriophage lysis in the hypermicroscope. Naturwissenschaften 1940;28:45–6.

Sin embargo, la historia ha venido a demostrar más bien lo contrario. El panorama de las enfermedades infecciosas está empeorando en todo el mundo. Incluso en países desarrollados, como EE.UU., la mortalidad por enfermedades infecciosas ha aumentado significativamente.

En los últimos 30 años la única enfermedad infecciosa que ha podido ser erradicada es la viruela. Sin embargo, han aumentado la incidencia de varias infecciones antiguas y aparecido nuevas enfermedades emergentes. Además surgieron bacterias y virus con resistencia a los antimicrobianos, infecciones por microorganismos oportunistas, entre otras características.

El avance en el conocimiento del microbioma humano juega un papel importante en la salud. Su estudio ha permitido comprender que las céulas eucariotas humanas no tienen toda la información genética necesaria para diferentes funciones. Lo que es más, las especies no cultvibles descubiertas por metagenómica estudios recientes refieren que una proprción importante del microbioma humano, bacterias y virus, es desconocida.

Retomando el inicio, le invitamos a trasladarse a un viaje imaginario en este mundo “invisible”.

Bibliografía

• Ackermann, H.-W., 2011. Ruska H. Visualization of bacteriophage lysis in the hypermicroscope. Naturwissenschaften1940; 28:45-6. Bacteriophage 1, 183–185. https://doi.org/10.4161/bact.1.4.17624.

• Edwards, G.A., Ruska, H., de Harven, É., 1958. Electron Microscopy of Peripheral Nerves and Neuromuscular Junctions in the Wasp Leg. J Biophys Biochem Cytol 4, 107–114.

• Gordon, S., 2016a. Elie Metchnikoff, the Man and the Myth. J Innate Immun 8, 223–227. https://doi.org/10.1159/000443331.

• Gordon, S., 2016b. Phagocytosis: An Immunobiologic Process. Immunity 44, 463–475. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.02.026.

• Hirsch, J.G., 1959. Immunity to infectious diseases: review of some concepts of Metchnikoff. Bacteriol Rev 23, 48–60.

• Moore, D.H., Ruska, H., 1957. THE FINE STRUCTURE OF CAPILLARIES AND SMALL ARTERIES. J Biophys Biochem Cytol 3, 457–462.

• Murphy Frederick A.The Foundations of Virology Discoverers and Discoveries.Inventors and Inventions. Developers and Technologies Infinity Ed. 2014.

• Pasolli, E., Asnicar, F., Manara, S., Zolfo, M., Karcher, N., Armanini, F., Beghini, F., Manghi, P., Tett, A., Ghensi, P., Collado, M.C., Rice, B.L., DuLong, C., Morgan, X.C., Golden, C.D., Quince, C., Huttenhower, C., Segata, N., 2019. Extensive Unexplored Human Microbiome Diversity Revealed by Over 150,000 Genomes from Metagenomes Spanning Age, Geography, and Lifestyle. Cell 176, 649-662.e20. https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.01.001.

• Sabin, A.B., 1932. EXPERIMENTS ON THE PURIFICATION AND CONCENTRATION OF THE VIRUS OF POLIOMYELITIS. J. Exp. Med. 56, 307–317.

• Wikimedia Commons. Las fotografías pertenecen a Wikimedia Commons https://commons.wikimedia.org/wiki/Main_Page.

Capítulo 2

El laboratorio de microbiología en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas

Introducción

La Microbiología comprende una de las áreas más excitantes de la ciencia moderna, permitiendo desentrañar las propiedades de la vida microscópica, más allá de la fron-tera de lo visible.

Esta disciplina de lo invisible desafía horizontes y avanza a grandes pasos produciendo cambios importantes en la medicina, en la industria, en el medio ambiente.

Los microbiólogos son:

• Investigadores que resuelven problemas y tratan de responder preguntas tales como: ¿Cómo pueden los microorganismos causar enfermedades en el hombre, plantas y animales?

¿Cómo podemos fabricar alimentos de mejor sabor y prevenir su descomposición?

¿Cómo podemos limpiar los derrames de petróleo?

¿Cómo podemos prevenir la caída de los dientes?

¿Cómo podemos entender mejor la naturaleza de todas las cosas vivientes?

¿Cómo podemos diagnosticar las enfermedades en períodos tempranos?

¿Cómo podemos fabricar mejores antimicrobianos a bajo costo?

Los microbiólogos son:

• Personas que intimidan a los microbios, así es que reconocen su comportamiento, su hábitat, sus relaciones, sus necesidades, sus flaquezas; descubren hasta su propio espíritu, destacando su capacidad de convivir manteniendo un delicado equilibrio delatando su carácter invasivo.

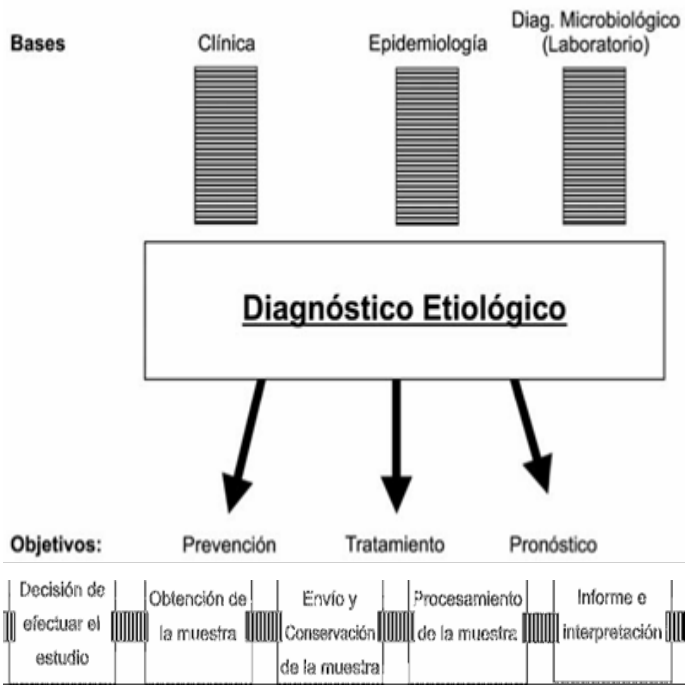
Los "microbios" no han sido vencidos, el desafío es constante, conocerlos es la mejor herramienta para limitar el avance que intentan.

Bases y objetivos del diagnóstico etiológico

La función principal del microbiólogo clínico es identificar el agente causal del proceso infeccioso que afecta a un individuo en particular o a una población determinada, evaluar la sensibilidad del agente a los diferentes antimicrobianos con el objetivo de asegurar un tratamiento correcto, establecer un pronóstico certero y permitir una adecuada prevención del proceso mórbido.

Todo médico frente a un proceso infeccioso debe valerse del diagnóstico microbiológico para abordar los objetivos planteados anteriormente.

El punto de partida (bases) es: el paciente que se presenta con un síndrome clínico infeccioso; una serie de datos personales, familiares, del ambiente que lo rodea (epidemiología) y los resultados del diagnóstico microbiológico.



Las funciones más importantes del laboratorio de microbiología clínica son examinar y cultivar muestras en busca de los microorganismos, identificar con certeza las especies involucradas y llevar a cabo las pruebas de sensibilidad a antimicrobianos en caso de ser indicadas. También provee información epidemiológica que permite definir fuentes comunes de infección, establecer vías de contagio posibles, encarar medidas de con-trol y erradicación.

Es necesario que el médico conozca y respete una serie de pasos, donde ninguno es más relevante que el otro, mediante los cuales logrará el diagnóstico definitivo.

Frente al conjunto de signos y síntomas y de los datos epidemiológicos presentados por el paciente, el médico decide efectuar el diagnóstico etiológico. Es conveniente que reconozca cuál es la muestra (espécimen, material) apropiada y en qué condiciones debe ser recogida, así como de qué manera debe conservar-

la y/o transportarla hasta que ésta llegue al laboratorio. Mantener la viabilidad del agente que está causando la enfermedad y evitar la contaminación son los objetivos fundamentales de estos pasos.

1. Decisión de efectuar el estudio
El diagnóstico y tratamiento inicial son por lo general más urgentes en las enfermedades infecciosas que en cualquier otro proceso patológico. Tanto la morbilidad, mortalidad y la propagación de las mismas se pueden reducir en forma significativa al iniciar tempranamente el tratamiento adecuado.
Es importante tener en claro si se justifica realizar (necesidad) el estudio microbiológico en relación a la utilidad que tal estudio presta al paciente y a la comunidad. Tomada la decisión debe llevarse a cabo con precocidad.

2. Obtención de la muestra clínica
La muestra clínica es la mínima porción de material orgánico obtenido del paciente en la que es más probable encontrar el microorganismo causal (diagnóstico directo) o la respuesta inmune específica (diagnóstico indirecto). Si no contamos con una buena muestra clínica los resultados no son confiables y no contribuyen al diagnóstico y tra-tamiento correctos del paciente. Una muestra clínica apta debe responder a tres interrogantes:

¿QUÉ? ¿CÓMO? ¿CUÁNDO?

-¿Qué?: ¿qué material o muestra clínica obtener? Para ello se deberá tener en cuenta que la muestra:
1. Debe ser representativa del sitio de la lesión, por ejemplo: hisopado faríngeo en faringoamigdalitis.
2. Debe obtenerse una cantidad suficiente para llevar a cabo las coloraciones y los cultivos necesarios.
3. Debe evitarse la contaminación con la microbiota normal.

-¿Cómo?: es la técnica correcta de obtención de la muestra clínica Dependerá de la muestra clínica a obtener (hisopado, punción-aspiración, aspirados).
· Realizar la limpieza y antisepsia previa a la obtención de la muestra clínica.
· Recoger en recipientes y dispositivos adecuados: estériles y herméticos.

-¿Cuándo?: la obtención de la muestra clínica dependerá del período evolutivo de la infección, de su historia natural y fisiopatología. La muestra clínica debe obtenerse siempre antes del tratamiento antimicrobiano.

3. Envío y Conservación de la muestra clínica
La muestra clínica debe ser enviada al laboratorio lo antes posible. La conservación de la misma deberá realizarse teniendo en cuenta el microorganismo a investigar y el tiempo hasta su procesamiento en el laboratorio (temperatura, medios de transporte) para preservar la viabilidad del agente etiológico. También es importante la seguridad biológica para quienes transportan la muestra, respetando las condiciones establecidas para tal fin, como por ejemplo el uso de recipientes de cierre hermético.
Cada muestra clínica debe ir acompañada de un protocolo en el que se consignarán datos necesarios para el microbiólogo, los que le servirán para seleccionar técnicas y orientarse en la búsqueda del agente e interpretar los resultados.

Consignar los siguientes datos:
-Nombre completo del paciente
-Edad -Sexo
-Procedencia (internado o ambulatorio)
-Tipo de muestra clínica.
- Forma de obtención
-Tratamiento previo con anti microbianos
-Antecedentes epidemiológicos
-Diagnóstico presuntivo.
-Fecha de obtención de la muestra clínica
-Firma del médico solicitante

Vea con atención el siguiente ejemplo:

Nombre: JUAN PÉREZ
Edad: 28 años
Sexo: Masculino
Procedencia: Pabellón 2 Cama 221
Muestra clínica: Hisopado faríngeo
Tratamiento previo: sin tratamiento con antimicrobianos
Antecedentes epidemiológicos y diagnóstico presuntivo: Angina a repetición

4. Procesamiento de la muestra clínica
Se denomina procesamiento de la muestra clínica a todos los métodos que se realizan en el laboratorio para llegar al diagnóstico etiológico. Para lograrlo se pueden realizar métodos directos (detección del

agente causal o de sus subunidades estructurales) y/o métodos indirectos (detección de anticuerpos específicos):

a. Detección del agente causal
b. Detección de sus subunidades estructurales
c. Detección de anticuerpos específicos
d. Detección de alteraciones histológicas

a. Detección del agente causal

Microscopía (Examen directo): Microscopía significa ver el microorganismo. El agente puede visualizarse utilizando microscopía óptica (bacterias) y microscopía electrónica (virus) lo cual orienta en el diagnóstico. Las técnicas para el examen directo pueden ser examen en fresco (se coloca el material entre portaobjeto y cubreobjeto sin colorear) y/o coloraciones.

Aislamiento: significa obtener el probable microorganismo causal "vivo" (viable). La mayoría de las bacterias se aíslan en medios de cultivo artificiales. Los virus se aíslan en cultivos de células, huevos embrionados o animales de experimentación.

Identificación: significa conocer el nombre del agente causal aislado (género y especie). La identificación puede ser fenotípica o genotípica. La primera se realiza mediante reacciones bioquímicas (bacterias) o reacciones inmunológicas antígeno-anticuerpo (bacterias o virus).La identificación genotípica se basa en técnicas moleculares.

b. Detección de sus subunidades estructurales

Determinados elementos estructurales del agente son antígenos que pueden ser detectados por técnicas inmunológicas, por ejemplo, la cápsula bacteriana (mucopoli-sacáridos), la cápside viral (proteínas).

A fin de identificar las estructuras antigénicas se utilizan como reactivos anticuerpos específicos conocidos. Por ejemplo:

-Técnicas de aglutinación directa: cuando enfrentamos un anticuerpo específico conocido a una muestra clínica que contiene el antígeno, se produce una aglutinación.

-Inmunofluorescencia directa: técnica que utiliza anticuerpos específicos marcados con una sustancia fluorescente para enfrentarlos a la muestra clínica que contiene el antígeno. Cuando es positiva podemos visualizar al microscopio de fluorescencia partículas con color fluorescente.

-Radioinmunoensayo (RIE): técnica en la que el antígeno a determinar compite en la unión a un anticuerpo específico con un trazador radioactivo.

-Enzimoinmunoensayo (EIE o ELISA): técnica cuantitativa que detecta la unión del antígeno con su anticuerpo específico marcado con una enzima que en presencia de su sustrato da un producto coloreado soluble, este producto es cuantificado con un espectrofotómetro.

Detección de ácidos nucleicos:

Existen técnicas de diagnóstico bacteriológico y virológico más complejas que se realizan en laboratorios de alta complejidad. Estas detectan e identifican ácidos nucleicos mediante técnicas de hibridación con sondas marcadas o reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Estas se denominan técnicas de diagnóstico microbiológico por biología molecular. Permiten la detección de porciones de ácidos nucleicos (AN) (DNA o RNA) que son específicos de cada microorganismo, en diferentes materiales clínicos. Su aplicación, surgió como una necesidad para poder detectar microorganismos de difícil crecimiento en cultivos o desarrollos tardíos y donde las técnicas serológicas de detección de antígenos (Ag) y anticuerpos (Ac) carecen de suficiente sensibilidad y especificidad diagnóstica.

Loa ácidos nucleicos se pueden detectar en la muestra clínica o en los cultivos.

Son técnicas de detección pero a la vez de Identificación (genotípica) ya que permiten conocer exactamente el género y especie microbiana. Estas técnicas han supuesto notables avances en el desarrollo de la Microbiología y las Enfermedades Infecciosas ya que permiten agilizar procesos diagnósticos y terapéuticos. Además de conocer la etiología precisa, mediante su aplicación podemos también detectar la presencia de genes de resistencia o de mutaciones presentes en ciertos genes. Por otra parte, la epidemiología molecular es aquella herramienta que posibilita el estudio de cepas en un posible brote nosocomial y vincular parentesco entre dichos agentes, y poder tomar medidas urgentes relacionadas al control de Infecciones para impedir consecuencias graves en la salud de los pacientes ya que a menudo están producidos por cepas con resistencia a los antimicrobianos.

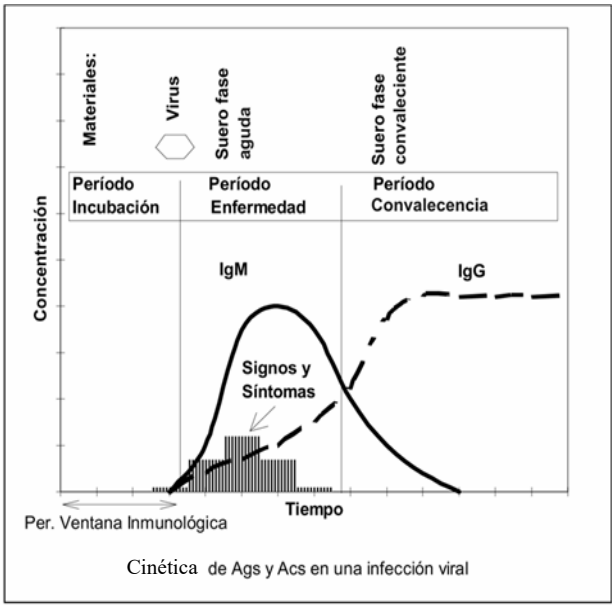
c. Detección de anticuerpos específicos

Frente al ingreso de determinados microorganismos, el huésped utiliza como mecanismo de defensa la producción de anticuerpos específicos (Inmunoglobulinas).

Las Inmunoglobulinas (Ig) útiles para realizar el diagnóstico serológico son IgM e IgG.

La IgM es la primera que aparece y es de corta persis-

tencia. Su detección indica infección aguda.
La IgG aparece en segundo lugar y aumenta hasta alcanzar una meseta, para descender luego muy lentamente durante años. La persistencia de esta clase de inmunoglobulina luego de la curación del enfermo, limita su utilidad en el diagnóstico. Esta Ig es utilizada en la seroconversión o conversión serológica.
Se denomina conversión serológica a la aparición de anticuerpos específicos en un huésped seronegativo o al aumento de cuatro o más veces el título de anticuerpos entre dos muestras de suero obtenidas en el período agudo y convaleciente, respectivamente.



Cinética de Ags y Acs en una infección viral

Nates S y Pavan J, Virología: Una propuesta para facilitar su aprendizaje, 1998).

Los métodos indirectos o serológicos (búsqueda de anticuerpos) se utilizan tanto para el diagnóstico bacteriológico como virológico.
En la práctica de rutina los métodos indirectos se aplican con mayor frecuencia al diagnóstico virológico.
d. Determinación de alteraciones histológicas (histopatología)
Algunas infecciones bacterianas producen una lesión anatomopatológica tan característica como para ser utilizada en el diagnóstico microbiológico. Ejemplo: micobacterias.

5. Informe e interpretación
El laboratorio debe informar los resultados en forma rápida y precisa, y el médico clínico interpretarlos en relación a los datos clínicos y epidemiológicos.

ADEMÁS DE VISUALIZAR O AISLAR UN MICROORGANISMO ES INDISPENSABLE ASOCIAR DICHO AGENTE AL CUADRO CLINICO DEL PACIENTE.

Niveles de diagnóstico microbiológico
Según el tiempo que demande y la complejidad del mismo, el diagnóstico de laboratorio puede ser:

Rápido	Precoz	Mediato pero definitivo
Tiempo: 30-60 minutos hasta 4 -5 horas	Tiempo: 24 - 48 hs.	Tiempo: 3 o más días
Microscopía óptica	Aislamiento en Cultivos (bacterias)	Aislamiento e identificación inmunológica viral
Pruebas inmunológicas: aglutinación con látex, co-aglutinación, etc.	Identificación inmunológica de bacterias del cultivo.	Identificación bioquímica bacteriana
Para virus: ELISA, IFI, Microscopía electrónica	Pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos	Otras pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos (Determinación de la C.I.M. y de la C.B.M) No es de rutina.

Control de calidad
Cada paso en el ciclo del diagnóstico debe ser controlado en su calidad para asegurar certeza y precisión en el diagnóstico microbiológico. Los microbiólogos deben asumir la responsabilidad de garantizar las prácticas por las cuales se toman las muestras y se las transportan al laboratorio, así como elaborar a tiempo informes precisos para asegurar la calidad de la atención de los pacientes.

NUEVAS TÉCNICAS O MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

La aplicación de la biotecnología molecular a la medicina, representa un campo de intensa investigación y vertiginoso desarrollo. La prevención, el tratamiento y el diagnóstico de muchas enfermedades que hasta hace pocos años resultaba imposible, hoy son una realidad, y cada vez más la biología molecular aporta conocimientos y tecnología aplicables a la mejora de la calidad de vida y la salud humana.
Si bien hemos centrado el interés de estas técnicas de detección de ácidos nucleicos para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas, también son muy utilizados hoy día para diagnosticar una amplia gama de enfermedades como neoplásicas y hereditarias. A continuación se desarrolla el fundamento y procedi-

miento de dos de estas tecnicas: la Reacción en cadena de la Polimerasa (RCP) y la HIbridzación con Sondas.

Reacción en cadena de la Polimerasa (RCP) Polimerase Chain reaction (PCR)

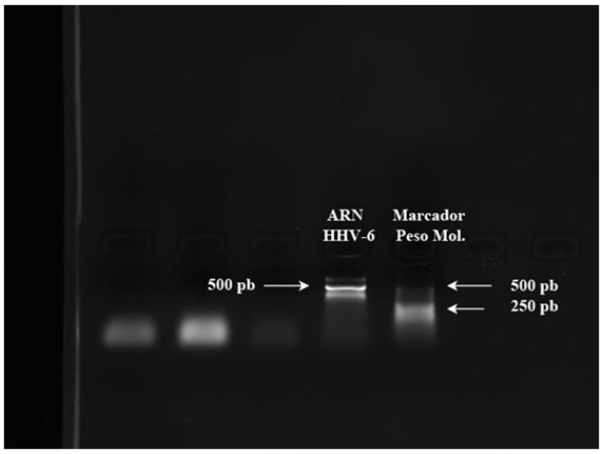
Uno de los más interesantes avances en el área de diagnóstico clínico, ha sido el desarrollo de un método que permite amplificar el número de copias de un determinado fragmento de ADN de interés. Esta técnica, llamada Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP), más conocida por su sigla en inglés PCR, permite la generación de millones de copias exactas de un fragmento de ADN, a partir de tan solo 1 copia original en apenas 2 o 3 horas. La PCR se basa en las propiedades de la replicación del ADN, que puede reproducirse in vitro si se coloca el ADN molde, en una mezcla de reacción con una enzima ADN polimerasa, nucleótidos y cebadores específicos para las regiones flanqueantes del fragmento que se desea amplificar. Esta mezcla, se coloca en condiciones de pH y osmóticas tales que permitan el funcionamiento adecuado de la polimerasa, y en condiciones de temperatura distintas. Primero, a altas temperaturas (94 o 95 grados) para lograr que el ADN se desnaturalice, es decir que se separen ambas hebras; segundo, a temperaturas adecuadas para que los cebadores hibriden con el ADN molde (entre 40 y 55 grados, según los cebadores); y en tercer lugar, a la temperatura adecuada para que la polimerasa de ADN lleve a cabo el proceso de replicación. Las polimerasas que se utilizan para esto, deben ser capaces de tolerar estas altas temperaturas de desnaturalización del ADN, por lo que la enzima utilizada, corresponde a una bacteria termófila, Thermus aquaticus, por lo cual se la llama Taq polimerasa, cuya temperatura óptima es de 72 grados. Hoy día se utiliza ésta y también otras enzimas, producidas en forma recombinante en E. coli .

Estos cambios de temperatura, se realizan en un equipo conocido como termociclador, que es capaz de variar entre rangos muy amplios de temperatura en tiempos muy cortos. Este ciclado de temperaturas, por ejemplo 94º por 1 minuto, 45º por 1,5 minutos y 72 º por 1, 5minutos se repite unas 30 veces, con lo que se logra que en cada ciclo se duplique el número de copias de cada una de las hebras del ADN molde, con lo que se logra un crecimiento exponencial.

Este procedimiento, puede aplicarse directamente sobre una muestra clínica, buscando determinar la presencia o ausencia de un microorganismo en particular, a través de la detección de una secuencia específica en su ácido nucleico.

En el siguiente enlace se puede observar cómo se realiza el procedimiento para PCR. https://www.youtube.com/watch?v=TalHTjA5gKU

Para revelar el resultado del ensayo, la mezcla de reacción debe ser utilizada como muestra en una corrida electroforética en gel de agarosa o de poliacril amida en mayor o menor medida según su peso molecular, es decir su tamaño en pares de bases. El fragmento a amplificar, es por supuesto de un tamaño conocido, por lo que podrá determinarse la presencia del gen buscado en la muestra, porque habrá amplificado en la reacción y presentará una banda del tamaño correspondiente en el gel.



Gel de agarosa en donde se observa una banda de 500 pares de bases, correspondiente a la amplificación por PCR, de un fragmento de ARN especìfico del virus HHV-6.

Hibridación por sondas

Se basa en las propiedades de complementariedad de bases del ADN. Una sonda, es un fragmento de ADN complementario a una región de un gen que nos interesa identificar, que ha sido marcada con algún indicador que pueda ser detectado luego de la hibridación. El marcado puede realizarse incorporando nucleótidos radioactivos o biotinilados o marcados con digoxigenina. Si en un cultivo bacteriano interesa saber si ésta posee el gen X cuya secuencia conozco, podremos construir una sonda específica para dicho gen, extraer el ADN del cultivo y mezclarlo con nuestra sonda, en condiciones que permitan desnaturalizar la estructura de doble cadena del ADN para permitir que la sonda logre hibridar con su secuencia

complementaria. De esta forma, podremos evidenciar si nuestro cultivo posee o no el gen buscado, ya que de estar presente, encontraremos la marca correspondiente a la sonda incorporada en la estructura del ADN. Esta técnica puede utilizarse aplicando la sonda directamente sobre una muestra clínica, por ejemplo una secciónticular, y en ese caso se denomina hibridación in situ.

Hoy se dispone de muchas sondas específicas de ADN empleadas para el diagnóstico de muchas enfermedades bacterianas. La hibridación por sondas, así como otros métodos que comentaremos para detectar un gen en particular, son es especialmente útiles para realizar el diagnóstico etiológico de infecciones producidas por microorganismos cuyo cultivo es dificultoso, ya sea por un crecimiento muy lento, como puede ser el caso de Mycobacterium spp., o por tener requerimientos especiales para su cultivo y aislamiento, como en Chlamydia sp. y Rickettsia sp. o en los virus.

El mayor problema en el diagnóstico utilizando hibridación por sondas, ha sido la baja sensibilidad de la técnica, ya que se requiere que en la muestra existan suficientes copias del gen buscado, como para que la marca correspondiente a la sonda sea detectada. En general, las técnicas de hibridación in situ con sondas no radioactivas, son capaces de detectar solo más de 200 copias del gen. Por esto, muchas veces la sensibilidad de la técnica no es suficiente como para descartar como muestras negativas a aquellas con las que se obtienen resultados negativos.

Existen muchas técnicas de biología molecualr que se emplean en el laboratorio de microbiología, algunas forman parte del área de la Epidemiología molecular (Control de Infecciones y estudio de brotes). Entre las más comunes se encuentran la Ribotipificación, Estudio del polimorfismo de los fragmentos de restricción o RFLP, Secuenciación, Electroforesis en gel de Poliacrilamida o PFGE, entre otras.

Otros métodos de diagnósticos nuevos

Además de las técnicas moleculares, en los últimos años se ha comenzado a utilizar una serie de procedimientos automatizados en el Laboratorio de Microbiología Clínica, principalmente en aquellos que manejan grandes volúmenes de muestras clínicas.

La implementación de estos procedimientos para el Diagnóstico Microbiológico posibilita establecer rápidamente el agente etiológico. Significa un cambio de paradigma , ya que algunos de estos métodos no necesariamente se basan en el modelo tradicional.

Además, algunos sistemas automatizados también pueden realizar pruebas de sensibilidad, determinación de la Concentración Innhibitora Mínima en forma simultánea para varios antimicrobianos , o presencia de genes de resistencia para ciertas drogas , datos que permiten establecer con más precisión la terapéutica antimicrobiana . Esto adquiere gran relevancia en infecciones graves, ya que la precocidad en el informe resulta decisiva para mejorar el pronóstico y la evolución de los pacientes.

Estos métodos poseen como ventajas, además de las ya descriptas, elevadas sensibilidad y exactitud diagnóstica, son herramientas de gran valor en los laboratorios de microbiología modernos; sin embargo, cabe destacar que para utilizarlos correctamente debemos partir de una muestra adecuadamente obtenida en todos los sentidos (sitio anatómico , momento de evolución del poceso, evitar interferencia con la microbiota normal, cantidad suficiente, conservación adecuada).

Otra ventaja es, que al ser automatizados y disminuir la manipulación de las muestras , hay menos posibilidad de contaminaciones durente el procesamiento, y esto es altamente deseable desde el punto de vista de la bioseguridad.

Entre las desventajas podeos mencionar las siguientes: algunos son muy costosos, requieren personal entrenado y lo que es fundamental, no son suficientes para poder establecer el valor etiológico respecto de una muestra, y la interpretación debe realizarse a la luz de una correcta integración de los hallazgos microbiológicos pero también de los antedentes clínico epidemiológicos de cada caso.

En muchos laboratorios estos métodos se han ido incorporando de a poco, y se pueden utilizar interconectados entre sí, optimizando así sus posibilidades, pero siempre deberían utilizarse bajo la estricta supervisión de un experto que asegure los controles de calidad correspondientes y dotado del criterio necesario para interpretar y jerarquizar los resultados.

A continuación se desarrollan brevemente algunas características de los procedimientos automatizados que están disponibles actualmente para Diagnóstico Microbiológico.

Sistema automatizado para hemocultivos y cultivo de líquidos nobles:

Es un aparato que se utiliza para cultivar y monitorizar permanentemente líquidos estériles, por ejemplo sangre, líquido cefalorraquídeo, pleural. Estos se

inoculan en frascos de policarbonato, que disminuyen accidentes, y se colocan dentro de este aparato que utiliza sofisticados algoritmos para detectar los microorganismos de manera temprana. Utilizando este sistema se pueden recuperar gran cantidad de microorganismos tales como bacterias, levaduras y micobacterias.

Sistema automatizado para hemocultivos

Sistema automatizado para identificación y sensibilidad antimicrobiana

Es un aparato que nos informa la identificación y sensibilidad de enterobacterias, bacilos Gram negativos no fermentadores, Staphylococcus spp., Enterococcus spp., Streptococcus del grupo B, S. pneumoniae y levaduras. Es necesario realizar una dilución 0,5-0,63 en escala de Mc Farland, a partir de colonias aisladas o frascos de hemocultivos positivos monomicrobianos. Determina la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM), comparando la obtenida con los valores de CIMs de fenotipos incluidos en su base de datos.

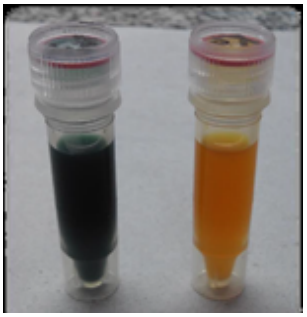
Sistema automatizado maldi-tof

Es un sistema basado en espectrometría de masas (desorción- ionización- láser asistida por matriz). Emplea un emisor de rayos láser, ionización y un detector de masa y carga; con esto genera un perfil de proteínas que son comparadas con su base de datos, y en 10 minutos nos da la identificación.

Se utiliza para identificar bacterias y levaduras, a partir de colonias aisladas o desde frascos de hemocultivos positivos monomicrobianos. Puede detectar proteínas específicas, como la PBP2A identificando así Staphylococcus meticilino resistentes.

Blue carba test

Es un ensayo colorimétrico destinado a la detección de carbapenemasas (enzimas producidas por microorganismos que otorgan resistencia a estos antimicrobianos). Se basa en la hidrólisis del carbapenem (contenido en el medio de cultivo) que cambia el pH de la solución, modificando el color del mismo. Detecta carbapenemasas en enterobacterias, Pseudomonas aeruginosa y Acinetobacter spp. en menos de 2 horas.



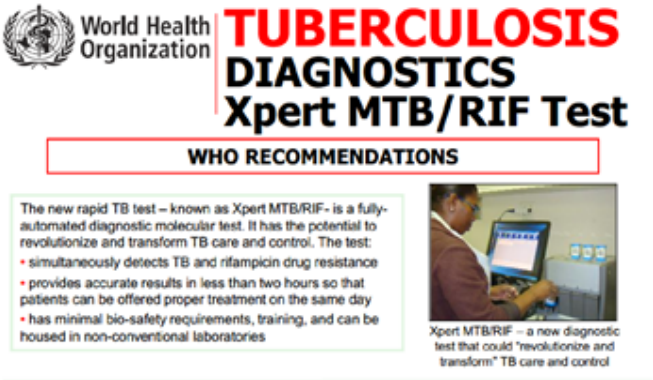
Blue carba test

Pcr real time

Es una modificación de la PCR convencional, más rápida, sensible y específica, porque detecta a la vez que amplifica. Se lleva a cabo en un sistema cerrado que evita contaminaciones y pérdida de tiempo con el uso de geles de agarosa. El tiempo de ejecución es de 1,5 horas, con una sensibilidad y especificidad superior al 95%. Existen test comercializados para enterovirus en LCR, Clostridioides difficile en heces, cuantificación de citomegalovirus, VIH o virus de Hepatitis C, detección de Staphylococcus aureus meticilino resistente en frotis nasales, y detección de Enterococcus spp. resistente a glucopéptidos en frotis rectales.

Xpert mtb/rif test

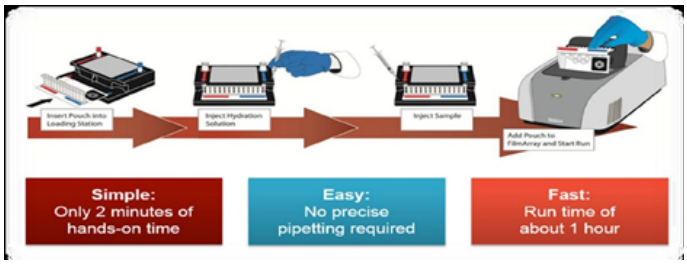
Es un test de diagnóstico molecular de fácil manejo basado en un sistema cerrado de PCR en tiempo real, avalado por la OMS para la detección del complejo Mycobacterium tuberculosis y su resistencia a rifampicina. Tiene el potencial de revolucionar el tratamiento y control de la tuberculosis ya que en menos de 2 horas nos informa si una muestra es positiva para tuberculosis y si es resistente a rifampicina (una de las drogas de primeria línea). Además requiere mínimas medidas de bioseguridad y de entrenamiento personal, pudiendo ser utilizado en cualquier laboratorio.



Film array: sistema de pcr múltiple

Esta técnica integra la extracción y purificación de los ácidos nucleicos directamente de la muestra clínica, la reacción de cadena polimerasa y la detección de las regiones génicas amplificadas. Requiere 5 minutos de mano de obra, es de fácil realización porque no requiere mediciones precisas ya que funciona con un mecanismo de llenado por vacío. Y nos entrega el resultado rápidamente, en aproximadamente una hora. Posee sensibilidad de 95% y especificidad de 99%.
Se comercializan actualmente en Argentina (aprobados por la ANMAT) los siguientes paneles:

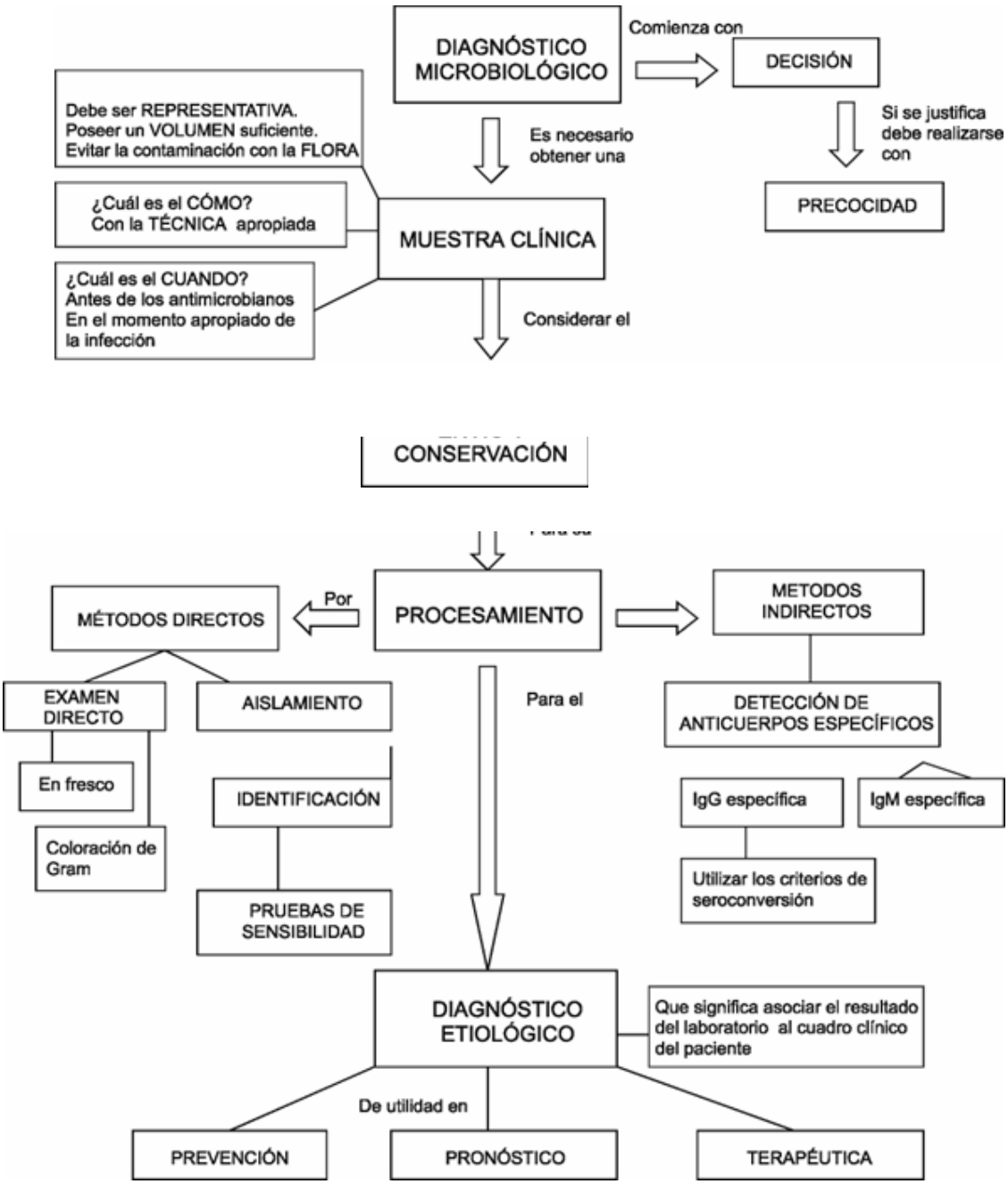
• Panel respiratorio alto: identifica 20 patógenos (virus y bacterias).
• Panel gastrointestinal: identifica 22 patógenos (virus, bacterias y parásitos).
• Panel de sepsis: otorga 27 identificaciones entre bacterias y levaduras, además de detectar 3 mecanismos importantes de resistencia a los antimicrobianos.
• Panel de meningitis/encefalitis: identifica 14 patógenos (bacterias, virus y levadura).



Finalmente, si bien se deben conocer y considerar estas técnicas como valiosas para acelerar los tiempos diagnósticos mejorando la teapéutica en pacientes críticos , siempre deben estar guiados por el criterio clínico a la hora de la interpretación de resultados, y nunca olvidando que para jerarquizar los mismos debemos partir de una muestra representativa y libre de contaminaciones.

Bibliografía

• Diagnostic Microbiology. Koneman's. 7° edition. Procop G, Church D, Hall G, Janda W, Koneman E, Schreckenberger P, Woods G. Chapter 1: Intontroduction to Microbiology. Part I. Chapter 3: Laboratory Diagnosis by Inmunologic Methods. Chapter 4: Molecular Microbiology. 2017.
• Espectrometría de masas MALDI-TOF en Microbiología Clínica, situación actual y perspectivas futuras. Muñoz Bellido JL, González Buitrago JM. Enferm Infecc Microb Clin. 2015; 33(6): 369-371.
• Farfán M., et al. Panel Filmarray GI® en la detección de patógenos entéricos en deposiciones: experiencia preliminar. Rev Chil Infectol. 2016; 33(1):89-91.
• Diagnóstico de virus respiratorios usando un sistema automatizado de PCR múltiples (Filmarray) y su comparación con métodos convencionales. Marcone D, Carballal G, Ricarte C, Echavarria M. Rev Arg Microb. 2015; 47(1):29-35.
• Sakurada A. Identificación rápida de patógenos en hemocultivos pediátricos por Filmarray. Rev Chil Infect. 2015; 32(1): 120-121. ISSN 0716-1018.



• Zheng X, Polanco W, Carter D, Shulman S. Identificación rápida de patógenos en hemocultivos pediátricos usando Panel de Hemocultivos Filmarray. J Clin Microb 2014; 52: 4368-71

• Jorgensen J, Pfaller M, Carrol K. Manual of Clinical Microbiology. 2015. 11° Ed. ASM Press.

• Cornaglia J, Corucol R, Herrman J, et al. European Manual of Clinical Microbiology. 2013. 1° Ed. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Societé Francaise de Microbiologie.

Capítulo 3

Célula bacteriana: estructura, morfología y funciones

El origen

Hubo un tiempo donde no había vida en la Tierra, y un tiempo en que las células aparecieron. La transición es difícil de imaginar. Alrededor de los 4400 millones de años los océanos del magma con altísimas temperaturas forzaron todo el agua a concentrarse en la fase del gas y convirtieron todo el carbón a bióxido de carbono atmosférico (CO_2). Luego alrededor de los 4,200 a 4,300 millones de años, la Tierra se había enfriado lo suficiente como para que hubiera agua líquida, esos primeros océanos eran dos veces más profundos que los de hoy. Más adelante, las corrientes hidrotermales comenzaron a secuestrar el agua a la corteza y al manto primordiales. Los primeros signos de vida aparecieron cuando el carbón surgió hace 3.950 millones de años. Sin embargo, el océano cubría la Tierra y probablemente hace 200 millones de años las primeras formas de vida celular hicieron su aparición. Debido a un código genético único y los aminoácidos universales, todas las formas de vida iniciaron su camino. En este sentido hubo un tiempo durante el cual un común ancestro (LUCA, last universal common ancestor) de todas las formas de vida existió. Ello pudo ser un organismo una célula o una reacción química desde la cual todas las formas de vida se generaron.

Luca es un constructo teórico, que pudo o no estar relacionado con lo que hoy llamamos células. Sin embargo, ayuda a la conceptualización entre rocas y agua en la temprana Tierra y a la naturaleza de las ideas de las primeras células. Análisis filogenético y datos metagenómicos podrían dar la idea de un árbol originario con dos ramas. Treinta y nueve proteínas codificadas en un gen conservado cruza los diferentes reinos. Las secuencias aminoacídicas provinieron de 9087 posiciones de aminoácidos por genoma.

Las arqueas (Archaea; et: del griego ἀρχαῖα [arkhaía], «las antiguas»), a veces llamadas árqueas (Fig 2), son un grupo de microorganismos unicelulares que, al igual que las bacterias, tienen morfología procariota (sin núcleo ni, en general, orgánulos membranosos internos), pero son fundamentalmente diferentes a éstas, de tal manera que conforman su propio dominio y reino.

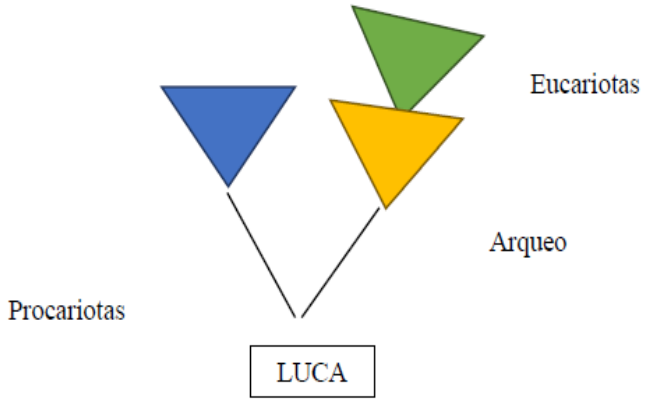


Fig 1 LUCA

Las arqueas y las bacterias son bastante similares. A pesar de esta semejanza visual con las bacterias (Fig 2), las arqueas poseen genes y varias rutas metabólicas que son más cercanas a las de los eucariotas, en especial en las enzimas implicadas en la transcripción y la traducción.

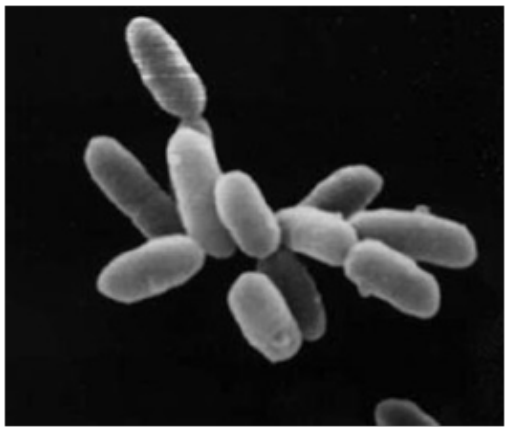


Fig 2. Halobacteria Archea

Las principales características que distinguen a los procariotas (del griego pronúcleo) son:

1. El ADN no está dentro de una membrana y usualmente constituido por un cromosoma circular.
2. Su ADN no se encuentra asociado a historas (proteínas cromosómicas que se encuentran en las eucariotas asociadas al ADN.
3. Generalmente no contienen organelas rodeadas de membranas (mitocondrias, retículo endoplasmático, etc. Pueden poseer gránulos de inclusión.
4. Su pared celular contiene casi siempre un polisacárido complejo denominado peptidoglicano.
5. Se dividen comúnmente por fisión binaria, el ADN es copiado y distribuido a dos células. De este modo

la división involucra pocas estructuras y procesos respecto a la división eucariota.
Las bacterias, microorganismos unicelulares con la capacidad de vivir libremente o en comunidades, que contienen la información genética y los sistemas productores de energía y biosintéticos necesarios para su crecimiento, así como para su desarrollo y reproducción; existen excepciones como Chlamydia spp. y Rickettsia spp. que se comportan como parásitos intracelulares obligados. En la figura se pueden apreciar los diferentes tamaños de bacterias respecto a una célula eucariota (Fig 3).

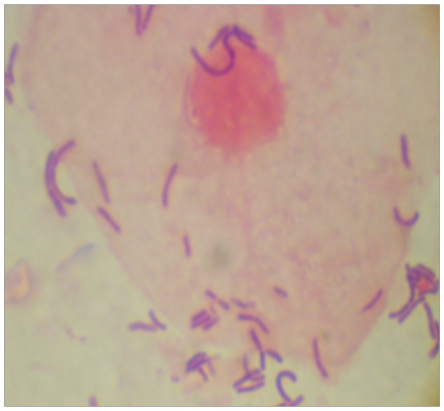


Fig 3. Una célula eucariota (en rojo) con bacterias de morfología bacilar (en violeta) algunas en el interior de la célula en la que se aprecia el núcleo rojo oscuro.

Las bacterias, como se refirió con anterioridad, se dividen por fisión binaria (de una célula madre se forman dos células descendientes). En general miden aproximadamente entre 1 a 15 um.

Estructura de la célula bacteriana
Las estructuras de las bacterias se pueden clasificar en esenciales y no esenciales:

Estructuras esenciales

Las estructuras esenciales, es decir que las poseen todas las bacterias son:
I. Pared celular
II. Membrana citoplasmática
III. Genóforo
IV. Ribosomas
V. Mesosomas

Estructuras no esenciales o accesorias
Las estructuras no esenciales o accesorias son:
I. Cápsula
II. Flagelos
III. Pili (Pili comunes y Pili sexuales)
IV. Inclusiones citoplasmáticas
V. Plásmidos
VI. Esporas

1. Estructuras esenciales
a. Pared celular
Forma parte de las envolturas de la bacteria, ubicada por fuera de la membrana citoplasmática. Todas las bacterias la presentan con excepción de Mycoplasma spp. (razón por la cual no se observa con la coloración de Gram). Funciona como un exoesqueleto que mantiene la forma (morfología bacteriana), la protege de las diferencias de presión osmótica evitando que la misma estalle (Fig.4).
La composición de la pared es diferente según se trate de bacterias Gram positivas o Gram negativas. Poseen un componente común que es el peptidoglicano (también lla-mado mureína o mucocomplejo de Park) constituido por una parte glucídica y otra peptídica.
Las bacterias Gram positivas poseen:
a) Peptidoglicano: es el constituyente fundamental de la pared. Es más grueso que en las Gram negativas.
b) Ácidos teicoicos: su ubicación no está definida. En gran porcentaje está unido al ácido murámico del peptidoglicano. Intervienen en el mantenimiento de la integridad de la pared celular, son antígenos de superficie y actúan en la recepción de fagos
c) Ácidos lipoteicoicos: están asociados a la membrana citoplasmática, atraviesan la pared y sobresalen de ella. Intervienen parcialmente en la adherencia bacteriana.
Las bacterias Gram negativas poseen tres capas (de adentro hacia afuera):
a) Espacio o gel periplasmático..
b) Capa interna: constituida por una capa más delgada de mureína que en las Gram positivas.
c) Lipoproteína de Braun que establece una unión entre la capa de peptidoglicano y la membrana externa.
d) Proteínas: que constituyen las porinas (pequeños canales o poros que permiten el paso de moléculas hidrofílicas de tamaño reducido) .
e) Capa externa o membrana externa: constituida por:
a. Fosfolípidos.
b. Lípido A: responsable de la función toxigénica (llamado endotoxina).
c. Polisacárido o core.

d. Antígeno "O" o somático: antígeno de superficie. Tipo específico. Es uno de los antígenos fundamentales de las bacterias Gram negativas.

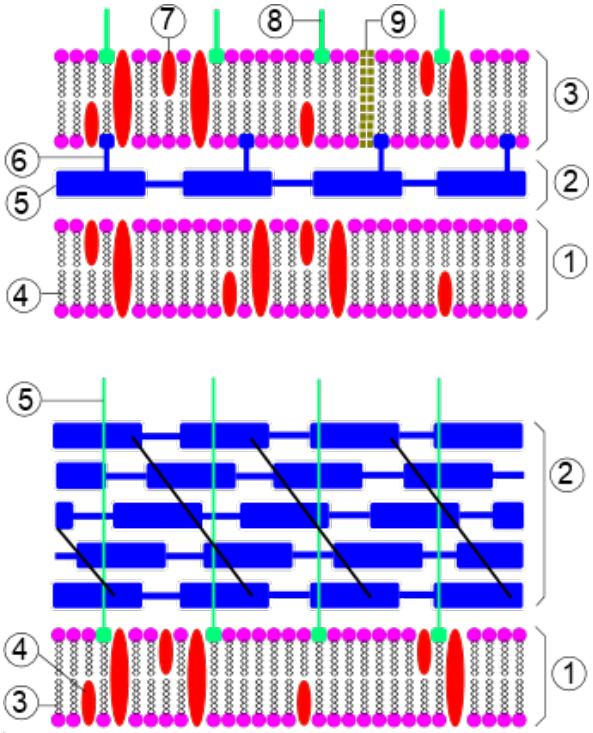


Fig 4. Características de la pared celular de las Gram negativas (figura superior): 1. membrana interna, 2. espacio periplásmico, 3. membrana externa, 4. fosfolípidos, 5. peptidoglicano, 6.lipoproteína, 7.proteína 8. lipopolisacárido, 9. porinas. Características de la pared celular de las Gram positivas (figura inferior): 1. membrana citoplasmática, 2.peptidoglicano, 3.fosfolípido, 4. proteína, 5. acido lipoteicoico (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bacteria_cell_wall.svg).

Espacio periplásmico:
El espacio periplásmico es un gel que contiene agua y moléculas libres, donde se encuentra suspendida la delgada capa de peptidoglicano. Se encuentra entre la mem-brana externa de la pared celular y la membrana citoplasmática.
Contiene una variedad de enzimas hidrolíticas que intervienen en el metabolismo celular, factores de virulencia líticos (colagenasas, hialuronidasas) en algunas bacterias Gram negativas patógenas, enzimas inactivantes de antimicrobianos (betalactamasas).

La pared celular:
a) Mantiene la morfología bacteriana.
b) Participa en la división celular.
c) Interviene en la protección a la lisis osmótica y agentes externos.
d) Posee factores de virulencia (endotoxina de las bacterias Gram negativas).
e) Importante sitio de acción de antimicrobianos (por ej.: betalactámicos).
f) Es la base del fundamento de la coloración de Gram.
g) Función antigénica (Antígeno O–ácidos teicoicos).
h) Interviene en la adherencia a la célula huésped (ácidos lipoteicoicos).

Formación de la pared celular
¿Cómo se sintetiza el peptidoglicano de las eubacterias, y cómo se produce el proceso general de crecimiento de la pared?
Nos concentraremos en la biosíntesis del peptidoglicano, debido a su interés intrínseco y aplicado (sobre este proceso actúan diversos antibióticos, algunos de gran importancia clínica).
Desde el punto de vista topológico, todas las capas de las envolturas bacterianas (membranas, pared celular) son superficies cerradas sobre sí mismas, físicamente continuas para mantener la integridad y viabilidad de la célula.
Pero, por otro parte, deben ser susceptibles de expandirse durante el crecimiento por incorporación de nuevos materiales. Además, todos los constituyentes deben crecer coordinadamente e incorporarse en los lugares precisos.
Durante cada ciclo celular, hay una fase en la que los materiales de las envolturas (y concretamente, de la pared celular que nos ocupa ahora) deben facilitar la división de la célula en una descendencia de dos células hijas.
Finalmente, queda el problema de la energía. Los procesos biosintéticos requieren aporte de energía química, pero el ATP y compuestos similares no pueden salir del protoplasto.
Estas son algunas de las estrategias bioquímicas y moleculares que las bacterias han puesto en funcionamiento:
a) Síntesis de precursores en el citoplasma
b) Ensamblaje parcial en membrana
c) Transporte a la cara externa de la membrana
d) Ensamblaje final en el exterior, mediante reacciones que no precisan energía

b. Membrana Citoplasmática
Está compuesta de proteínas y fosfolípidos formando una verdadera estructura de membrana, semipermeable.
Las funciones de la membrana citoplasmática son:

a) Actúa como barrera osmótica.
b) Es el sitio donde asientan diversas enzimas que intervienen en la fosforilación oxidativa, transporte de electrones, etc.
c) Es el lugar donde se realiza la síntesis de diversos componentes de la bacteria (por ejemplo: la pared celular).
Además es el sitio de acción de algunos antimicrobianos (por ejemplo: polimixinas).

c. Genóforo o nucleoplasma o ADN cromosómico
Se denomina así porque no presenta membrana nuclear. Está constituido por material genético (ADN) dispuesto en un único cromosoma que mide aproximadamente 1 mm. de longitud cuando está desenrollado. Puede estar relacionado con la membrana citoplasmática directamente o por un mesosoma.
El conocimiento de su estructura se realiza mediante técnicas de biología molecular (hibridación) y de técnicas de secuenciación (RCP) que permiten conocer las secuencias exactas de los fragmentos de genoma que se deseen.
El genóforo es también el sitio de acción de algunos antimicrobianos (por ejemplo: Quinolonas).

d. Ribosomas
Son estructuras constituidas por ARN que poseen una constante de sedimentación de 70S (subunidades de 50S y 30S) a diferencia de los ribosomas de las células eucariotas que tienen una constante de 80S (subunidades de 60S y 40S). Esta diferencia es fundamental para el tratamiento cuando se utilizan antimicrobianos que actúan en los ribosomas, haciéndolo únicamente sobre los ribosomas procariotas.
Son el sitio de síntesis de proteínas bacterianas.
Constituyen el sitio de acción de antimicrobianos (por ejemplo: Aminoglucósidos, Tetraciclinas).

e. Mesosomas
Son invaginaciones de la membrana citoplasmática presentes principalmente en las bacterias Gram positivas.
Se clasifican en:
a) Septales o de tabique: intervienen en la división celular (fisión binaria)
b) Laterales: intervienen en la producción de exoenzimas y de energía.

2. Estructuras no esenciales o accesorias

a. Cápsula
Es una envoltura externa que poseen ciertas bacterias Gram positivas y Gram negativas compuesta por mucopolisacáridos. Las cepas capsuladas producen enfermedad, mientras que las no capsuladas son rápidamente fagocitadas y destruidas.
Funciones y propiedades:
Importante factor de virulencia debido a su capacidad antifagocitaria.
Capacidad antigénica (ej.: en las enterobacterias se denomina Antígeno K). Estos antígenos capsulares permiten, por un lado la identificación y, por otro, la elaboración de vacunas (Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae)
Protección frente a fagos y antimicrobianos.
Protege a las bacterias de la desecación.

b. Flagelos
Son apéndices filiformes de naturaleza proteica (flagelina), presentes con mayor frecuencia en bacterias Gram negativas.
Funciones y propiedades:
Confieren movilidad a las bacterias.
Tienen capacidad antigénica (Ag H en enterobacterias)
c. Pili o fimbrias
Son estructuras de superficie, más cortas y finas que los flagelos, también constituidas por sustancias proteicas (pilina). Se encuentran con mayor frecuencia en las bacterias Gram negativas. Se clasifican en pili comunes y pili sexuales.
Los comunes intervienen en la adherencia bacteriana y es el primer paso de la colonización y posterior infección por bacterias Gram negativas, además poseen capacidad antigénica.
Los pili sexuales intervienen en la transferencia de material genético de una bacteria a otra mediante un mecanismo conocido como conjugación.

d. Inclusiones o gránulos citoplasmáticos
Representan reservas de nutrientes consistentes en proteínas, polisacáridos y/o lípidos. Su presencia en algunos microorganismos facilita el diagnóstico por el examen directo, por ejemplo: Corynebacterium diphtheriae, Mycobacterium tuberculosis.
e. Plásmidos
Son fragmentos de ADN (material genético) extracromosómico. Pueden transmitirse de una bacteria a otra por conjugación a través de los pili sexuales. Re-

plican independientemente del cromosoma bacteriano. Pueden ser únicos o múltiples. Se transmiten por herencia a las células hijas. Son portadores de genes que codifican gran cantidad de información como la producción de enzimas inactivantes de antimicrobianos: por ejemplo betalactamasas, que intervienen en la resistencia bacteriana; determinantes de patogenicidad (en algunos géneros bacterianos la presencia de pili comunes está relacionado con la patogenicidad como la capacidad de Neisseria gonorrhoeae de adherirse específicamente en ciertas localizaciones anatómicas).

La introducción de plásmidos en bacterias ha permitido la síntesis de proteínas y otras sustancias por bacterias (como ejemplo: Escherichia coli para la producción de insulina y vitamina B12).

f. Esporas

Son una forma de resistencia bacteriana ante situaciones adversas: desecación, agentes físicos (frío o calor), agentes químicos y deficiencias nutricionales. Pueden germinar en condiciones medioambientales favorables para transformarse nuevamente en célula vegetativa.Se observan como una estructura refringente, esférica u oval, que puede estar en el interior de la bacteria (endospora) o permanecer como espora libre (forma de resistencia). La formación de esporas es exclusiva de los bacilos Gram positivos representados por los géneros Bacillus (aerobio) y Clostridium (anaerobio).

La capacidad de una bacteria para formar esporas se denomina esporulación. El mecanismo de pasaje de la espora a la forma vegetativa original se denomina germinación.

Las esporas pueden deformar o no la pared celular y ubicarse de modo central, subterminal o terminal del cuerpo celular.

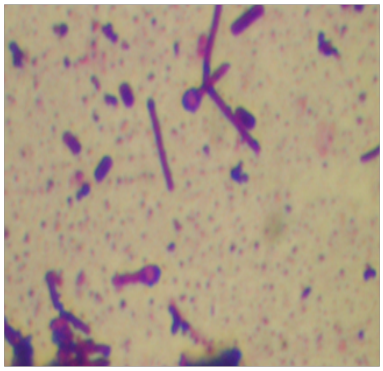


Fig 5. Bacilo Gram positivo con espora terminal que deforma la pared celular

Morfología Bacteriana

Las principales formas bacterianas son (Fig 6):

1. Esférica: cocos

Según los planos de división se generan las diferentes poblaciones y estructuras o disposiciones.

a. Cocos en racimos: Staphylococcus spp.; en cadenas: Streptococcus spp.; en pares (diplococos) unidos por los extremos: Streptococcus pneumoniae; en pares (diplococos) unidos por sus caras laterales: Neisseria spp

2. Cilíndrica o de bastón: bacilos

a. Con extremos rectos: Clostridium spp.; con extremos redondeados: Salmonella spp.; en forma de palillo de tambor: Clostridium tetani, con extremos afilados o fusiforme: Fusobacterium spp.; en forma de coma: Vibrio spp

3. Espiralada o helicoidal: espirilos

a. Espiral extendido e irregular: Borrelia spp.; espiral apretado y regular: Treponema spp.

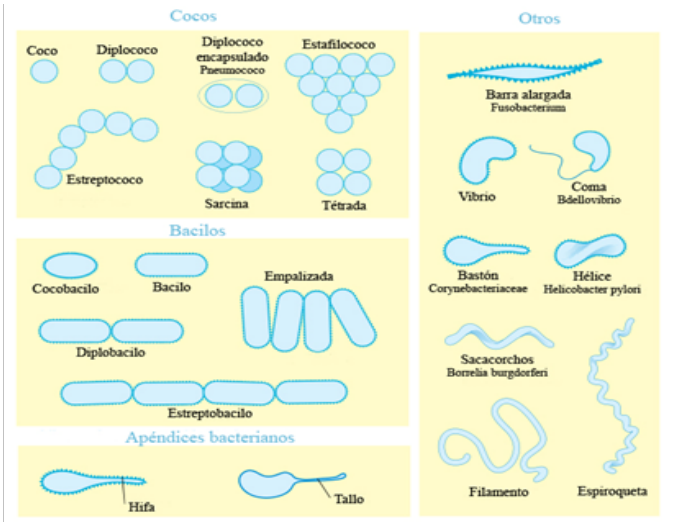


Fig 6. Morfología bacteriana (Wikimedia Commons)

Coloración de Gram

Es una coloración diferencial que se utiliza de rutina en el diagnóstico bacteriológico. Permite distinguir la morfología (coco o bacilo), tinción (Gram positivo o Gram negati-vo) y disposición (cocos en pares: diplococos, cocos en cadenas, cocos en racimos). No es una técnica de identificación, sino que por el contrario se trata de una técnica de visualización.

Técnica

a) Extendido.

b) Fijación por calor (flameado).

c) Coloración:

i. Cristal violeta (2 minutos).

ii. (mordiente - 1 minuto)
iii. Alcohol - Acetona (decolorante - 10 segundos) d- Fucsina o Safranina (contracolorante - 30 segundos)
Las bacterias Gram positivas se visualizan de color violeta y las Gram negativas de color rosado.

Fundamento
Si bien no existe una teoría definida que explique los fundamentos, se postulan las siguientes hipótesis.
Se produciría en las bacterias Gram positivas una unión estable entre el cristal violeta y los componentes de la pared celular (ribonucleato de Mg, ácidos teicoicos) que impedirían la decoloración por el alcohol-acetona.
El alcohol-acetona actuaría sobre la estructura lipídica de las bacterias Gram negativas produciendo un arrastre de aquella unión estable, permitiendo una retinción con el contracolorante.

Los virus

Introducción
Todas las formas de vida están caracterizadas por una estructura biológica particular, la que se repite en diferentes niveles de complejidad. El modelo unitario es la célula, que se repite en las más diferentes formas de vida. Este modelo biológico se internalizó en el pensamiento científico como una estructura paradigmática. Sin embargo, algunos iluminados de la ciencia demostraron la existencia de otras formas biológicas que no responden a los criterios celulares. Lo que es más, estas formas biológicas utilizan las vías metabólicas celulares para perpetuarse en la naturaleza. Estas "formas de vida" son estructuralmente simples y se asemejan más a un cromosoma que a cualquier otro microorganismo. Logran gerenciar la energía celular para su único provecho; en esta interacción con la célula huésped algunos terminan destruyendo el espacio que habitan y otros, los más "astutos", anclan su existencia a la vida del hospedero. Así es que estas estructuras no responden a la definición de vida otorgada por la comunidad científica y para comprenderlas es necesario un cambio en el modelo de pensamiento. Son macromoléculas inertes en el medio extracelular y agentes activos dentro de una célula, donde desplazan al genoma celular en el comando del metabolismo. Estos son los virus, organizaciones biológicas que habitan un espacio incierto entre lo vivo y lo inerte.

La característica general de todos los agentes infecciosos es su multiplicación, lo que les permite la perpetuación en la naturaleza y el encuentro con nuevos huéspedes a través de diferentes estrategias, acorde a sus estructuras biológicas y a sus capacidades metabólicas. Es aquí donde aparecen las grandes diferencias. Mientras que algunas formas de vida celulares tienen la capacidad intrínseca de sintetizar sus componentes estructurales, los virus necesariamente deben recurrir a otras formas de vida para multiplicarse. Es así que estas estructuras biológicas habitan un espacio ubicado entre (i) el encuentro con otras formas de vida y (ii) su condición inerte extracelular. De este modo se pueden diferenciar dos momentos. Uno de ellos es fuera de la célula susceptible, situación en la cual los virus son partículas metabólicamente inertes, que esperan la oportunidad de alcanzar una forma de vida. El otro momento se inicia cuando el virus alcanza esa estructura biológica que le permite iniciar una relación simbiótica en la que se comportará como un parásito obligado.

La estructura viral responde a una geometría biológica
Los virus tienen una geometría que les permite relacionarse simbióticamente con formas de vida . El virión, es la unidad estructural de los virus. En su expresión más simple consiste en una molécula de ácido nucleico rodeada de una cubierta proteica denominada cápside. La asociación de la cápside con el ácido nucleido forma la nucleocápside. Esta nucleocápside es la estructura que corresponde a un virus desnudo. En otros casos el virión está formado por la nucleocápside y una envoltura glicoproteica, estructura que corresponde a un virus cubierto. Los virus cubiertos o envueltos, adquieren esta membrana lipoproteica durante el proceso de brotación de la célula hospedera donde han replicado. Los lípidos de la membrana pertenecen a la célula, pero las proteínas son codificadas por el virus. Estas membranas pueden tener espículas, que son estructuras glicoproteicas codificadas por el virus. Otro tipo de proteína de envoltura es la denominada proteína de matriz formada por subunidades proteicas no glicosiladas y que se ubica entre la nucleocápside viral y la membrana lipoproteica.
La cápside está compuesta por un número definido de unidades morfológicas proteicas, denominadas capsómeros, las que se agrupan con uniones no covalentes. Esta agrupación define la simetría de la cápside,

la que puede ser cúbica (icosahédrica) o helicoidal. En la simetria icosahédrica, los capsómeros se ensamblan formando un icosahedro, estructura de 12 vértices, 20 aristas y 30 caras, en la que cada cara es un tríangulo equilátero. La estructura icosahédrica representa en la naturaleza la solución perfecta a un problema de construcción en el que intervienen muchas unidades repetitivas, lográndose la estructura más sólida posible. Esta geometría biológica tiene un campo universal, y se refiere a estructuras que responden a un modelo de integración tensional en donde la estabilidad de la construcción se logra por la manera en que la estructura en su conjunto distribuye y equilibra sus tensiones, y no por sus miembros individuales. Estas formas se encuentran en numerosas estructuras naturales tales como en el citoesqueleto de una célula de mamífero, un adenovirus, un grano de polen; todas estas son estructuras que han servido de modelos en ingeniería para la construcción de las cúpulas geodésicas de las iglesias, por ejemplo. Lo que es más esta estructura formada por unidades repetitivas de hexágonos y pentágonos es similar a los polígonos de cuero en la estructura de un pelota de fútbol. Los adenovirus, rotavirus, rubéola y polio, entre otros, organizan sus nucleocápsides de acuerdo con un modelo de cúpula geodésica.

Los virus se distinguen de otras formas de vida por su composición química simple, la que incluye un genoma con una o pocas moléculas de ácido desoxirribonucleico (ADN) o ácido ribonucleico (ARN), un pequeño número de proteínas que forman la cápside, y en el caso de los virus envueltos una bicapa lipoproteica asociada a glicoproteínas (Fig 7, 8 y 9).

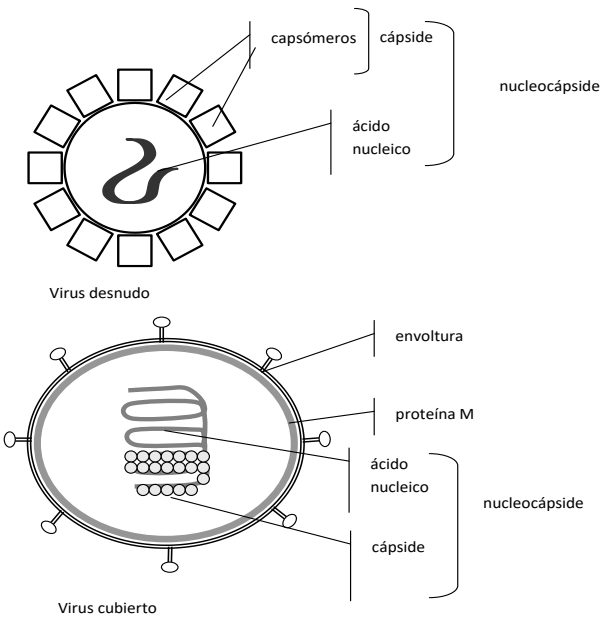


Fig 7. Estructura de los virus desnudos y cubiertos

El ácido nucleico es la parte infectiva de la partícula, y contiene la información para codificar las proteínas necesarias para su estructura y multiplicación . Todos los genomas virales son haploides, esto es, contienen sólo una copia de cada gen; a excepción de los genomas retrovirales que son diploides. El ADN o el ARN viral puede ser de doble o de simple cadena, la que puede ser cerrada (circular) o lineal. Los virus con ARN lineal pueden tener una sóla hebra de ácido nucleico o un número variable de segmentos: ARN segmentado como por ejemplo: 2 segmentos en los arenavirus y 11 en los rotavirus.

Las proteínas virales pueden formar parte de la arquitectura del virión y se denominan proteínas estructurales. Cuando no forman parte de la arquitectura viral se denominan proteínas no estructurales y son herramientas utilizadas por el virus durante su ciclo replicativo.

Las proteínas estructurales proveen una cubierta protectora al genoma y a su vez, funcionan como un ligando a la célula hospedera. El número de proteínas estructurales es variable, de 2 a 100, según la complejidad del virus.

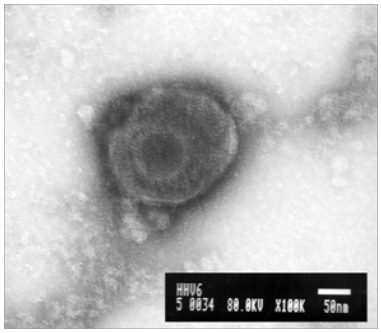


Fig 8. Virus envuelto, de la Familia Herpesviridae, donde se puede apreciar la cápside y la envoltura. (fotografía de microscopía electrónica).

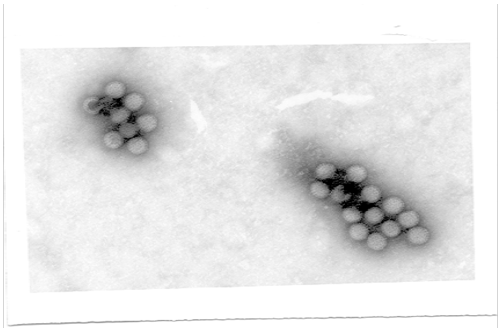


Fig 9. Reovirus, con doble cápside (fotografía de microscopía electrónica).

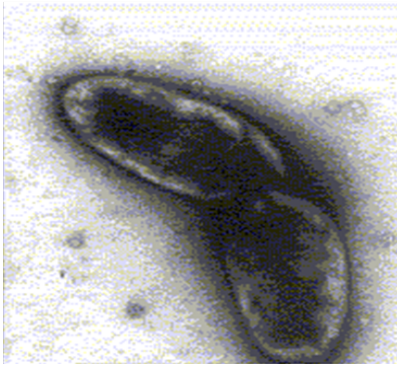


Fig 10 (debajo) Reovirus y célula bacteriana(fotografía de microscopía electrónica).

Otros agentes infecciosos

Priones
Viroides
Virusoides o virus satélites (virus defectivos)

Priones

Son glicoproteínas identificadas como PrP. No contienen ácidos nucleicos. No tienen capacidad antigénica. Tienen capacidad autoreplicativa. Son muy resistentes a la inac-tivación. Constituyen un cambio en el paradigma en microbiología, pues puede producir-se la enfermedad por mutaciones en el ADN del huésped en ciertos casos familiares. La proteína prión (PrP) es una proteína de transmembrana codificada por la célula huésped que al sufrir un cambio conformacional forma una proteína prión anormal denominada proteína scrapie (PrPSC). Mientras que la proteína normal tiene un recambio rápido en las células, la PrPSC es sólo degradada parcialmente y se acumula en los tejidos. Su acumulación en las neuronas produce cambios espongiformes (degeneración vacuolar) visibles histológicamente en el cerebro.
Ejemplos:
Encefalopatías espongiformes:
Scrapie (ganado ovino)
Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (hombre) Síndrome de la “vaca loca” (ganado bovino).

Viroides

Constituidos por ARN. No poseen cápside. Son autorreplicables y producen enferme-dades en diversas plantas.

Virus defectivos

Son virus que poseen una alteración de su material genético. No tienen capacidad de replicación sin la presencia de un virus auxiliar.
Ejemplo: Virus satélite (virusoide): Virus de la Hepatitis Delta que utiliza como virus auxi¬liar al Virus de la Hepatitis B.

Bibliografía

• Tang Y., Sussman M., Liu D., Schwartzman J. Molecular Medical. Microbiology. 2nd Ed. Elsevier . 2015
• Tortora GJ, Berdell R, Funke C L Microbiology an Introduction Case | University | Academia, 20th edition. 2018 [WWW Document], n.d. . Scribd. URL https://es.scribd.com/document/374901771/PDF-Ffu-PDF-Microbiology-an-Introduction-by-Gerard-J-Tortora-Berdell-R-Funke-Christine-L-Case (accessed 10.29.18).
• Weiss, M.C., Preiner, M., Xavier, J.C., Zimorski, V., Martin, W.F., 2018. The last universal common ancestor between ancient Earth chemistry and the onset of genetics. PLoS Genet. 14, e1007518. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007518.

Capítulo 4
Factores de virulencia bacterianos

"Tengo la certeza, como tantas veces te he dicho, de que hacia el Levante existe otro mundo. Muchos honores me serán dados, así me lo ha dicho el rey, si hallo en mi empresa las tierras de Aztlán u otras donde extender los dominios del Imperio. Se me ha prometido, también, que sería nombrado príncipe de todas las islas y tierras que yo descubriese y ganase de aquí en adelante. Pero ni los honores, ni el afán de someter a otros pueblos, ni el de extender el Imperio, ni los títulos o cargos tendrían para mí importancia alguna si eso significara renunciar a ti." (Federico Andahazi "El conquistador" -2006-).

Introducción

Los seres humanos y los microorganismos habitamos el mismo planeta y es inevitable que nuestras vidas se crucen. Pero no siempre ese cruce es beneficioso para uno o para otro ya que la relación entre hombres y gérmenes es demasiado compleja. Ya sabemos, por lo que hemos estudiado, que la relación hospedero-microorganismo, puede ser favorable tanto para uno como para el otro, puede ser indiferente o por el contrario puede ser perjudicial.

No es que en este juego gane el hospedero ya que, la evolución de las especies ha hecho que muchos microorganismos encuentren la forma de "conquistar" e "invadir" al ser humano. Es en esta encrucijada donde adquieren valor los denominados factores de virulencia.

La patogenicidad se define como la capacidad de un microorganismo para causar daño en un hospedero y desequilibrar sus mecanismos de defensa, produciendo enfermedad o No siempre un agente infeccioso posee esta capacidad ya que muchas veces, un agente infeccioso alojado en el cuerpo humano no es patógeno (lea el capítulo de microbiota), es por ello que es importante saber que a este término se le debe añadir el término virulencia, el que refleja el grado o nivel de expresión de la patogenicidad.

Cuando se dice virulencia en términos generales, se confunde el concepto con la palabra "virus", pero virus no es virulencia. Es probable que un microorganismo de alta virulencia produzca daño en su encuentro con el huésped y por ello cause enfermedad, mientras que uno de baja virulencia sólo cause infección. Enfermedad es la alarma clínica señalada por un cuadro que se refleja con signos y síntomas mientras que infección es sólo el proceso por el cual un agente ingresa al huésped y queda alojado en él no causando manifestaciones clínicas.

Sin embargo, aquellos microorganismos capaces de producir infección, enfermedad o ambas en el hospedero se denominan patógenos y las características propias que les permiten hacerlo se denominan factores de virulencia.

Los factores de virulencia proporcionan a los microorganismos la capacidad de obviar las defensas del hospedero y dañar sus células, tejidos y órganos de diversas maneras; siendo algunos de ellos específicos para cada bacteria, virus, hongo o parásito como así también las estrategias que se ponen en marcha.

El conocimiento de las estrategias implicadas en la virulencia y patogenicidad. resulta indispensable para definir con fundamento las acciones y los mecanismos asociados al combate de numerosos padecimientos causados por microorganismos. Es importante saber que el conocer los factores de virulencia de un agente ayuda al diagnóstico microbiológico (aislamiento e identificación) y a la prevención de algunas enfermedades infecciosas a través de la creación de vacunas.

Se tratará de describir algunos de esos principales factores que promueven la colonización, y/o invasión bacterianas de los tejidos humanos.

Origen de los factores de virulencia bacterianos

En las últimas décadas ha adquirido importancia saber cómo una bacteria es capaz de producir infección y enfermedad en un huésped.

Desde los primeros estudios del genoma bacteriano hechos por Watson y Crick en 1953 a la fecha, la biología molecular y el estudio del genoma han permitido entender qué, cómo, dónde y cuándo una bacteria va a invadir. A partir de la década del 80, en el siglo XX, investigadores alemanes que buscaban los factores de virulencia en una cepa uropátogena de Escherichia coli sentaron las bases para iniciar la búsqueda de su origen. Así se descubrió que en el genoma bacteriano existen islas génicas que crípticamenteposeen información para que una bacteria produzca o no determinado factor de virulencia. Estas islas génicas están constituidas por un sinnúmero de elementos genéticos móviles que juegan un rol fundamental en la virulencia de bacterias patógenas tanto para seres humanos, como para plantas y animales. A estos ele-

mentos genéticos móviles localizados en el genoma bacteriano que poseen información para la producción de diferentes factores de virulencia se los denomina "islas de patogenicidad". Una isla de patogenicidad se caracteriza por presentar genes de virulencia, aparecer exclusivamente en bacterias patógenas y no en bacterias no patógenas, encontrarse próximas al ARN de transferencia, poseer genes móviles conjugables relacionados con transposones, plásmidos y fagos y por esto poseer inestabilidad genética. Esto hace que las islas de patogenicidad puedan ser transferidas de célula a célula en forma horizontal por cualquiera de los tres mecanismos conocidos de transferencia de material genético: transformación, trasducción (fagos) y conjugación (plásmidos).

Una isla de patogenicidad puede codificar para varias funciones de la bacteria. La mayoría posee genes para la supervivencia y la transmisibilidad de las bacterias. Se forman a partir de la adquisición de varios bloques de genes y esos se redistribuyen para dar lugar a lo que se denomina "fitness islands" que luego se especializarán en islas ecológicas, islas saprofíticas, islas de simbiosis o islas de patogenicidad. La expresión génica de una isla de patogenicidad depende especialmente del medio ambiente donde se desarrolle la bacteria. Es decir, se expresa el gen sólo bajo el estímulo o influencia que ejerza el ecosistema permitiéndole a una bacteria adaptarse al medio y causar por ejemplo enfermedad.

Las islas de patogenicidad codifican en general para los siguientes factores de virulencia bacterianos: adhesinas, sistemas quelantes de hierro, toxinas formadoras de poros (listeriolisina, alfa-hemolisinas), toxinas de muerte celular (autolisinas), proteínas causantes de apoptosis, superantígenos, lipasas, proteasas, antígeno O; proteínas de transporte de Pili y de flagelos (sistemas de transporte de proteínas), resistencia anti-biótica fenotípica.

Las bacterias patógenas humanas en las que se ha estudiado que muchos de sus factores de virulencia están codificados por estas islas de patogenicidad son: Helicobacter pylori, Peudomonas aeruginosa, Shigella spp.; Yersinia spp.; Vibrio cholerae; Salmonella spp.; Escherichia coli enteropatógena, enterohemorrágica, enterotoxigénica, enteroag regativa, enteroinvasiva, u ropatógena; Neisseria meningitidis, Neisseria gonorrhoeae; Citrobacter spp.; Bacteroides fragilis; Porphyromonas gingivalis; Pseudomonas syringae; Dichelobacter nodosus dentro de las bacterias Gram negativas y Listeria monocytogenes; Staphylococcus aureus; Staphylococcus aureus resistente a la meticilina; Streptococcus spp.; Enterococcus faecalis; Clostridium difficile dentro de las bacterias Gram positivas.

El proceso infectivo:

Para que una bacteria produzca infección y/o enfermedad debe reunir dos propiedades fundamentales, ya sea en forma conjunta o aislada. Esas dos propiedades se denominan invasividad y toxigenicidad. Estas dos propiedades están promovidas por los denominados factores de virulencia que son elementos estructurales esenciales o no de la anatomía de la célula bacteriana y/o productos metabólicos de las mismas. No siempre un factor de virulencia es antigénico, es decir, no siempre promueve una respuesta inmune por parte del hospedero, pues entonces no siempre son factibles para la creación de vacunas. En la siguiente figura (1) se observa un diseño del proceso infectivo.

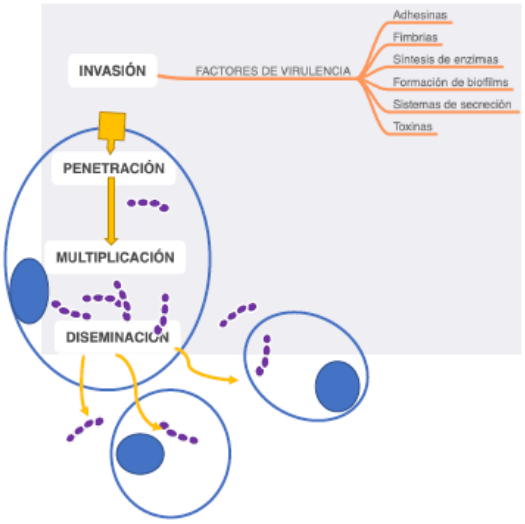


Fig 1. El proceso infectivo

Invasividad:

Se denomina así a la capacidad de las bacterias para penetrar, establecerse, reproducirse y diseminarse en los tejidos del hospedero, ya sea en su superficie o en el interior de la célula humana. En ella intervienen los siguientes factores de virulencia:

Adhesinas

Una vez que un agente infeccioso llega al hospedero lo primero que hará será adherirse a la superficie celular.

Este mecanismo se denomina adherencia y para ello debe existir en el hospedero un sitio "blanco" o "diana" que la permita. Tal objetivo resulta importante en superficies mucosas como boca, intestino delgado y tracto urinario que generalmente son "lavados" por

los fluidos, es por ello que la unión debe conllevar cierta estabilidad. Las estructuras bacterianas que impulsan este mecanismo son:

Pili o fimbrias

Son estructuras proteicas (pilina) largas, flexibles, propias de bacterias Gram negativas, que se extienden hasta el exterior de la superficie bacteriana para interactuar con la céluladel hospedero; que se forman a partir de un complejo mecanismo que se inicia en la membrana citoplasmática de la bacteria e impulsa a la proteína pilina hacia afuera atravesando la membrana interna, el espacio periplásmico y la pared celular. Se conocen en la actualidad hasta cuatro diferentes mecanismos secretores de proteínas extracelulares. Todos requieren de un alto gasto de ATP. El mecanismo III es el que se relaciona con la secreción de pilina. Su producción es continua y permanente, no sólo para sustituir aquellas que se van perdiendo sino también para eludir la acción neutralizante de los anticuerpos anti-pili; este mecanismo esta promovido por la producción de Pili con variaciones antigénicas diferentes que hacen que los anticuerpos bloqueadores sean obsoletos.

Aunque distribuidas en casi todo el perímetro bacteriano, algunas especies las presentan en zonas específicas. El extremo exterior de los Pili busca receptores específicos en la célula huésped (sitio blanco o diana) constituidos por hidratos de carbonos, glicolípidos o glicoproteínas que ayudan a la unión estable y específica para esa determinada bacteria en ese determinado lugar.

Adhesinas no fimbriales

Algunas bacterias presentan en su superficie, proteínas extracelulares que funcionan eficazmente en el proceso de adherencia. Estas sustancias bacterianas se denominan adhesinas no fimbriales que tienen como receptor blanco en la célula a otras proteínas de superficie y su participación es independiente de la presencia o ausencia de Pili.

Dado que las fimbrias son patrimonio de las bacterias Gram negativas, es muy difícil determinar qué elementos de la estructura bacteriana de las bacterias Gram positivas se comportan como adhesinas.

Hasta este momento todo indica que los ácidos lipoteicoicos son las estructuras de la pared celular de estas bacterias que suplen la función de las fimbrias; aunque se ha visto que existen otras estructuras externas no fimbriales de naturaleza proteica que cumplen esta función. La proteína F de Streptococcus pyogenes, cuyo receptor es la fibronectina en los eritrocitos y en muchas otras células humanas, es un ejemplo.

Por otro lado cabe mencionar otras sustancias que intervienen favoreciendo la adherencia como: las biopelículas (biofilmes, slime, glucocálix, glicocálix) que son matrices de polisacáridos que permiten la unión a la célula blanco por su superficie interna y a otros microorganismos por su capa externa que se observan en tracto gastrointestinal, boca (placa dentaria), pulmones, vagina pero también en superficies de sondas, catéteres y prótesis; impidiendo por su presencia la fagocitosis y la llegada de antibióticos al sitio y hasta a veces produciendo émbolos que ingresan al torrente circulatorio agravando el cuadro clínico del paciente.

Es importante comentar que muchas veces la instalación de ciertos agentes se ve facilitada también por elementos del huésped como por ejemplo la excesiva producción de moco o la imposibilidad de arrastrar fuera del sitio por inacción de vellos o de cilias celulares, como ocurre en el tracto respiratorio inferior.

Movilidad

Algunos sitios como el tracto urinario y el intestino delgado, se encuentran más prote-gidos que otros de la colonización bacteriana debido al constante paso de fluidos a tra-vés de ellos. Por esa razón es que las bacterias móviles son aquellas que con mayor facilidad hacen de estos sitios sus lugares preferenciales. La movilidad resulta fundamental para el avance bacteriano a través de las capas de mucina pero también es necesaria para que se produzca un desplazamiento correcto del agente a la célula blanco.

Las bacterias pueden moverse por varios mecanismos, todos se basan en la presencia y concentración de estímulos químicos en el lugar y es hacia esos estímulos que las bacterias se dirigen. Las sustancias que intervienen en la atracción bacteriana son aminoácidos o carbohidratos.

El flagelo bacteriano es una verdadera máquina de propulsión que conduce al patógeno al sitio blanco. Se trata de un filamento helicoidal (único o múltiple) que se centra en un sistema de discos giratorios que se ensamblan en la membrana citoplasmática y que giran en dirección horaria o antihoraria obedeciendo las órdenes del sistema de control integrado por señales bioquímicas que provienen del medio externo produciendo la migración bacteriana.

Si bien son los flagelos las estructuras bacterianas más estudiadas, algunas bacterias tienen otras formas

de desplazamiento.
Dentro de estos ejemplos se encuentran los miembros de la familia Spirochaetaceae (Treponema spp., Borrelia spp.) que atraviesan la mucosa girando sobre su propio eje como un verdadero "sacacorchos", los mycoplasmas que avanzan a través de la emisión de pseudópodos (movimiento amebiano), la atracción o expulsión de cargas eléctricas de membrana positivas o negativas de ciertos bacterias como los estafilococos o los estreptococos (movimiento Browniano) o la capacidad de, una vez penetrada una célula, utilizar las fibras de actina de la superficie de la misma para desplazamientos intracelulares, como lo hace Shigella spp.

Exoenzimas hidrolíticas
Las bacterias patógenas pueden producir y liberar exoenzimas hidrolíticas que destruyen o alteran sustancias liberadas por el huésped, que ahora se unen en la misión de actuar a favor del agente infeccioso y no del huésped. Generalmente ocasionan daño celular y tisular. Se denominan comúnmente hidrolasas pero dependiendo de la sustancia sobre la que intervengan se denominan ADNasas, fosfatasas y leucocidinas, que interfieren con la fagocitosis; hialuronidasas, colagenasas y elastasas, que destruyen la matriz celular; betalactamasas, acetil-tranferasas, acetilasas, que interfieren con la acción de los antibacterianos; IgA hidrolasa, que cliva y destruye a los anticuerpos de la clase Ig A.
Esta última se encuentra fija a la mucina por su fracción Fc, por los que sus fracciones libres funcionan como elementos "pegajosos", a los que se fijarán los agentes infecciosos. La estrategia bacteriana consiste en producir una hidrolasa que rompe a la inmunoglobulina, a nivel de la bisagra. Ejemplos de bacterias que producen Ig A hidrolasa son Neisseria gonorrhoeae y Haemophilus influenzae.
La acción hidrolítica sólo se produce sobre la Ig A 1 que predomina en casi todos los tipos de mucosa.

Agentes quelantes de hierro
El hierro es un elemento importante para las bacterias pero su presencia en el hombre es escasa encontrándose ligado a hemina, ferritina, transferrina y lactoferrina. Es por ello que las bacterias necesitan captarlo como hierro libre o extraerlo de estas moléculas, tarea que se lleva a cabo a través de tres mecanismos bien descriptos:
a. Síntesis de sideróforos: son proteínas extracelulares que toman el hierro a partir de receptores en la superficie de las células del hospedero.
b. Receptores superficiales de hierro no sideróforos: especialmente lo hacen toman-do el elemento que está ligado a transferrina o a lactoferrina.
c. Producción de exotoxinas: son encargadas de destruir a los eritrocitos liberando el hierro de la hemina.
Sólo pueden sintetizarse en medios carentes de hierro. Aún se desconoce qué ocurre con el metal una vez captado por estos elementos y cómo es incorporado a la célula bacteriana.

Evasión de la fagocitosis, los anticuerpos y la acción del complemento
En este apartado, es la cápsula el elemento facultativo de la célula bacteriana que fun-ciona como factor de virulencia evadiendo al sistema inmune. Las cápsulas corresponden a redes poco compactas de polímeros que recubren la superficie bacteriana. Las más estudiadas están constituidas por polisacáridos pero las hay de péptidos, proteínas o glucoproteínas. Su papel radica en proteger a la bacteria de la respuesta inflamatoria que ofrece el hospedero.
La fagocitosis se evita sintetizando cápsulas que impiden la reacción entre sus com-ponentes principales y los componentes de los fagocitos o bien elaborando cápsulas cuya estructura es similar a estructuras elaboradas por la célula del huésped. Por ejemplo Streptococcus pyogenes la produce de ácido hialurónico y Neisseria meningitidis la elabora de ácido siálico que son sustancias que también elaboran las células, por ende no son reconocidas como sustancias extrañas por el sistema inmune.
La acción lítica del complemento se evita limitando la vía alterna y disminuyendo la difusión libre de la C3 convertasa y por ende impidiendo que se manifieste la cascada activadora con disminución del Complejo de Ataque a la Membrana (MAC), que promueve la destrucción de las células procariotas o, por otro lado, captando grandes cantidades de proteína H que al reaccionar con C3b es degradado por la proteína sérica I.
Otras estrategias para evadir a la fagocitosis y al complemento son:
a. Ajustes en el lipopolisacárido (LPS) de las bacterias Gram negativas que alteran la interacción con el complemento que no puede ejercer su acción lítica definitiva. Estas bacterias se consideran resistentes

séricas pudiendo producir sepsis.
b. Limitación en la migración de los fagocitos por producción de sustancias que degradan a C5a, importante elemento en la atracción de macrófagos.
c. Producción de agresinas: son proteínas tóxicas que pueden provocar muerte de los fagocitos, impedir la unión fagosoma-lisosoma, disminuir el poder oxidativo dentro del lisosoma.

La acción de los anticuerpos es evitada a través de diversos mecanismos:
a. modificando la estructura de importantes proteínas superficiales,
b. sintetizando sustancias de envoltura similares a las elaboradas por el hospedero (como se explicó con las cápsulas de ácido hialurónico o de ácido siálico),
c. recubriendo la bacteria con proteínas producidas por el huésped colonizado.

La formación de biofilm

En la naturaleza los microorganismos suelen estar asociados en comunidades denominadas biofilms, que constituyen una capa delgada de especies bacterianas unidas a través de una matriz exopolisacárida a una superficie. La comunicación química de célula a célula o "quorum sensing" permite a las bacterias coordinar su actividad de modo conjunto (Ver **https://commons.wikimedia.org/wiki/Category:Quorum_sensing**). De este modo los biofilms son sistemas o comunidades biológicas.

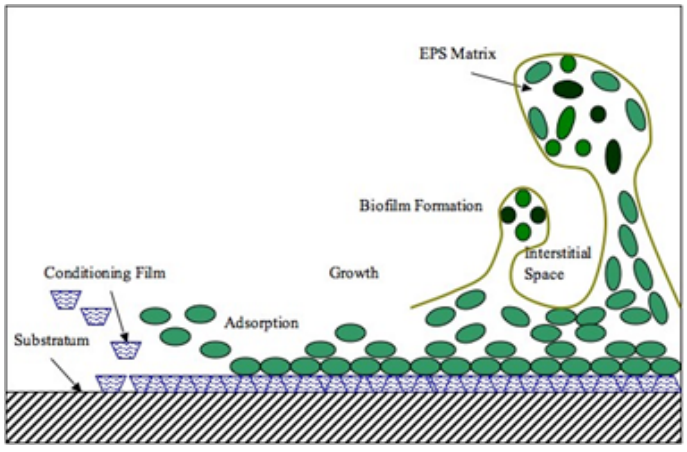


Fig 2. Se observa la adherencia de células bacterianas (en verde claro), la formación del biofilm y la aparición de otras especies bacterianas (en verde oscuro), la matriz exopolisacárida (https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/82/Biofilm_Formation.jpg)

Invasión y residencia intracelulares

Muchas bacterias patógenas han logrado evadir la fagocitosis, el complemento, la acción de los anticuerpos y de algunos antibióticos desarrollando mecanismos que les permiten ingresar a las células y reproducirse dentro de ellas.
Su objetivo se logra uniéndose íntimamente a la célula diana y provocando cambios en el citoesqueleto de la misma hasta quedar prácticamente dentro de ella formando un verdadero fagosoma por medio de la intervención de un grupo de proteínas denominadas "invasinas" o "factores de invasión" e "integrinas", que son proteínas superficiales de la célula hospedera que reconocen a las invasinas bacterianas y facilitan el ingreso del agente invasor, la liberación del fagosoma y el eficaz desplazamiento entre las células del tejido afectado. Como si esto fuera poco, muchas bacterias, citemos como ejemplo a los géneros Shigella y Listeria, quedan fijadas a un extremo de la actina de la célula huésped y a través del mismo se ayudan para ser impulsadas al interior del citoplasma.

Sistemas de secreción de las bacterias

Diferentes bacterias patógenas han desarrollado complejas maquinarias para transferir proteínas codificadas en su cromosoma a células eucariontes y se conocen como sistemas de secreción de proteínas (Fig 5). Debido a que las proteínas bacterianas liberadas modulan varias funciones celulares, reciben el nombre de proteínas efectoras, término que se aplica solo a moléculas que requieren maquinarias de multi-proteínas especializadas para ser liberadas en la célula eucarionte.
La diferencia que puede ser más notable entre estos complejos multiproteicos es que las bacterias Gram-positivas necesitan realizar un simple proceso de secreción a través de una sola membrana mientras que las bacterias Gram-negativas transportan la molécula biológica a través de la doble membrana que las rodea hacia el medio extracelular, mediante un mecanismo más complejo. Sin embargo, los genes que codifican para proteínas que participan en el proceso de secreción de bacterias Gram-positivas muestran un alto grado de similitud con los genes identificados originalmente en Escherichia coli.
Debido a esto, el criterio que se utiliza para diferenciar los sistemas de secreción radica en el tipo de transporte realizado por la bacteria, independientemente de si se trata de una bacteria Gram-positiva o Gram-negativa.

El tipo de transporte se puede realizar mediante dos vías, la vía Sec-dependiente y la vía Sec-independiente. En la vía Sec-dependiente la secreción de sustratos depende de la secuencia señal ubicada en el extremo amino terminal que posee la proteína a secretar, pues por medio de esta secuencia, la proteína es reconocida y transportada por el sistema de secreción Sec. La vía Sec-independiente se caracteriza por la translocación de la proteína sin la presencia de la secuencia señal en el amino terminal o de un intermediario periplasmático (Koster et al., 2000). La vía Sec-independiente engloba los sistemas de secreción tipo I, III y IV, los cuales forman complejos multiproteicos que evitan la presencia del efector en el periplasma por lo que los sustratos son secretados desde el citoplasma hasta el medio extracelular.

Los sistemas de secreción se expresan en especies bacterianas como Salmonella entérica, Shigella, Chlamydia, Yersinia y Escherichia coli.

Sistema de secreción tipo II (TTSS II). Este tipo utiliza el sistema Sec para transportar proteínas del citoplasma al espacio periplásmico, mediante otras proteínas llamadas secretinas; atraviesan la membrana citoplasmática (interna) y la membrana externa para alcanzar el medio externo.

Sistema de secreción tipo III (TTSS III). Este sistema se describe como una jeringa molecular, por medio de la cual la bacteria inyecta diferentes proteínas a la célula hospedera. Los sistemas de secreción tipo tres (SST3) son "nanojeringas" o "inyectisomas" de origen proteico y escala nanométrica que se ensamblan en las membranas celulares de las bacterias que las producen, y que permiten la entrega de proteínas de virulencia bacteriana a las células eucariotas que infectan. Este sistema lo utilizan Escherichia coli enteropatógena y enterohemorrágica, entre otras.

Sistema de secreción tipo IV (TTSS IV). El TTSS IV es un sistema homólogo a la maquinaria de la conjugación bacteriana y puede transportar tanto DNA como proteínas. Este sistema lo usa Helicobacter pylori para transferir la proteína CagA dentro de las células gástricas. También Bordetella pertussis secreta su toxina por ese mecanismo.

Sistema de secreción tipo V (TTSS V). A este sistema se le conoce como sistema autotransporte, aunque también utiliza el sistema Sec para cruzar la membrana externa; las bacterias que usan este sistema forman una estructura beta barril en su extremo carboxilo, el cual se inserta en la membrana externa y permite al resto del péptido (péptido señal), llegar al medio externo.

Sistema de secreción tipo VI (T6SS). Se piensa que consiste en dos complejos principales, en asociación con elementos citoplásmicos: un ensamble asociado a la membrana, que incluye dos proteínas que son homólogas a elementos del sistema de secreción IV.

Representación esquemática de dos diferentes modos de ingreso de patógenos intracelulares:

a. Mecanismo de cremallera (Fig 3) y el

b. Mecanismo gatillo desencadenado por sistemas de secreción bacterianos (Fig 4).

El mecanismo de cremallera se relación con la unión de alta afinidad entre las adhesinas bacterianas y sus receptores en la célula eucariota. Esto inicia una reorganización del citoesqueleto celular del hospedero, que involucra el movimiento de la membrana alrededor de la bacteria y su posterior internalización. Algunas bacterias han adquirido estrategias para sobrevivir dentro de la vacuola o escapar de este compartimiento.

El mecanismo gatillo es desencadenado por sistemas de secreción bacterianos utilizados por Shigella spp. o Salmonella spp. que utilizan sistemas de secreción para inyectar en la célula hospedera diversas proteínas efectoras. Dichas proteínas intervienen en la reorganización del citoesqueleto y su ingreso posterior.

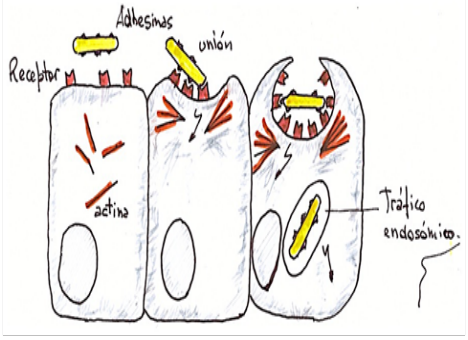


Fig 3. Mecanismo de cremallera

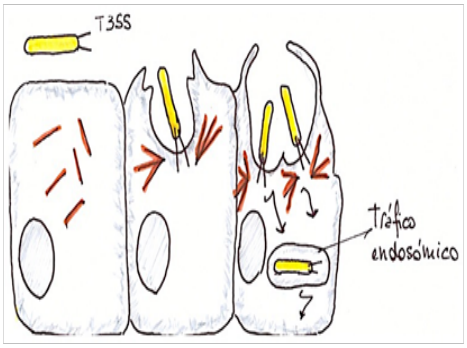


Fig 4. Mecanismo gatillo desencadenado por sistemas de secreción bacterianos

Toxigenicidad

Se define como la capacidad de las bacterias para producir toxinas. La toxigenicidad bacteriana es responsable de diversos procesos y con excepción de las intoxicaciones alimentarias que se basan en el envenenamiento de los alimentos o el agua por toxinas bacterianas depende de que el agente toxigénico se adhiera previamente a las mucosas del individuo afectado. Para eso existen receptores específicos de membrana. Por ejemplo los gangliósidos M1 de la membrana celular en el enterocito, son un receptor específico para ciertas toxinas entéricas como la de Vibrio cholerae.

Las toxinas son productos metabólicos producidos por las bacterias que les permiten invadir y multiplicarse dentro de un huésped. Existe una vasta clasificación de las mismas, pero en líneas generales las toxinas bacterianas se dividen en dos grandes grupos: endotoxinas y exotoxinas. Las exotoxinas son producidas por bacterias patogénicas, en particular Gram positivas como parte de su metabolismo y desarrollo. Son excretadas al medio extracelular durante la fase logarítmica de crecimiento. Las endotoxinas son parte de la estructura externa de las bacterias Gram negativas (lipopolisacárido) y son liberadas cuando la bacteria se lisa o destruye.

Las exotoxinas son codificadas por plámidos y de naturaleza proteica. Los tipos de exotoxinas son:

a. A-B exotoxinas, que son polipéptidos en donde la estructura A es una enzima y la B es una estructura de unión.

b. Toxinas que destruyen la membrana del hospedero, por ejemplo la exotoxina de Staphylococcus aureus, la que produce canales en la membrana o bien la de Clostridium perfringens que rompe las uniones de los fosfolípidos. Es así que este tipo de toxinas según la población blanco se denominan leucocidinas, hemolisinas.

c. Los superantígenos son toxinas que producen una intensa respuesta inmune a través de un estímulo no específico de los clones linfocitarios T uniéndose en la zona entre el receptor de los linfocitos T y los complejos de histocompatibilidad celulares (ver figura 5).

Las genotoxinas, por ejemplo producidas por Haemophilus ducreyi y Helicobacter spp dañan el DNA.

Las endotoxinas provienen de la estructura celular de las Gram negativas y son de naturaleza lipídica. Se liberan cuando la célula bacteriana se destruye e inducen reacciones sistémicas como fiebre, coagulación intravascular diseminada, choque y muerte.

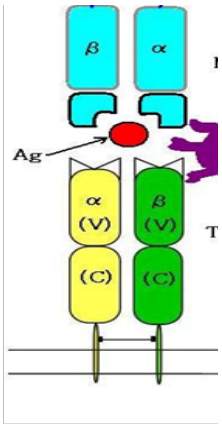


Fig 5. Superantígeno (SAg) y su ubicación entre el MCH de la célula presentadora de antígenos y el TCR le permite actuar como puente en la estimulación de los clones linfocitarios T.

VIDEOS:

1. En el intestino del pez cebra se observa la motilidad de Vibrio spp.

Ver (hipervínculo):
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Host-Gut-Motility-Promotes-Competitive-Exclusion-within-a-Model-Intestinal-Microbiota-pbio.1002517.s007.ogv

Host Gut Motility Promotes Competitive Exclusion within a Model Intestinal Microbiota.Travis J Wiles ,Matthew Jemielita ,Ryan P Baker,Brandon H Schlomann,Savannah L Logan,Julia Ganz,Ellie Melancon,Judith S Eisen,Karen Guillemin,Raghuveer Parthasarathy Wiles TJ. PLoS Biol. 2016 Jul 26;14(7):e1002517. doi: 10.1371/journal.pbio.1002517. https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.1002517.

2. Como fue referido, la célula bacteriana tiene un sistema de secreción integrado por proteínas que le permite inyectar en la célula hospedera otras proteínas para su invasión. Algunos de estos sistemas de inyección causan reorganización citoesquelética, que envuelve las bacterias. En el citosol, las bacterias escapan de la la membrana vacuolar y se mueven, entre ellas algunas no móviles utilizan el citoesqueleto celular a fin de lograrlo.

Microscopía confocal de lapso de tiempo de la propagación de célula a célula de S. flexneri que muestra la división bacteriana dentro de la célula (dentro de vesículas) y diseminación a una célula adyacente. Amarillo, membrana plasmática; azul, S. flexneri.

Ver (hipervínculo):
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112738.s008

The Shigella flexneri Type 3 Secretion System Is Required for Tyrosine Kinase-Dependent Protrusion Resolution, and Vacuole Escape during Bacterial Dissemination.nCarole J. Kuehl,Ana-Maria Dragoi,Hervé Agaisse. https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0112738.

Bibliografía

• Abisado, R.G., Benomar, S., Klaus, J.R., Dandekar, A.A., Chandler, J.R., 2018. Bacterial Quorum Sensing and Microbial Community Interactions. mBio 9, e02331-17. https://doi.org/10.1128/mBio.02331-17
• Asfahl, K.L., Schuster, M., 2017. Social interactions in bacterial cell-cell signaling. FEMS Microbiol. Rev. 41, 92–107. https://doi.org/10.1093/femsre/fuw038
• Biological Functions of the Secretome of Neisseria meningitidis. - PubMed - NCBI [WWW Document], n.d. URL https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28670572 (accessed 11.3.18).
• Ch'ng, J.-H., Chong, K.K.L., Lam, L.N., Wong, J.J., Kline, K.A., 2018. Biofilm-associated infection by enterococci. Nat. Rev. Microbiol. https://doi.org/10.1038/s41579-018-0107-z
• Hansmann, S., Martin, W., 2000. Phylogeny of 33 ribosomal and six other proteins encoded in an ancient gene cluster that is conserved across prokaryotic genomes: influence of excluding poorly alignable sites from analysis. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 50 Pt 4, 1655–1663. https://doi.org/10.1099/00207713-50-4-1655
• Lamont, R.J., Koo, H., Hajishengallis, G., 2018. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. Nat. Rev. Microbiol. https://doi.org/10.1038/s41579-018-0089-x
• Lemos, J.A., Quivey, R.G., Koo, H., Abranches, J., 2013. Streptococcus mutans: a new Gram-positive paradigm? Microbiology 159, 436–445. https://doi.org/10.1099/mic.0.066134-0
• Super-Resolution Imaging of Protein Secretion Systems and the Cell Surface of Gram-Negative Bacteria. - PubMed - NCBI [WWW Document], n.d. URL https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28611954 (accessed 11.3.18).
• Tang Y., Sussman M., Liu D., Schwartzman J. Molecular Medical. Microbiology. 2nd Ed. Elsevier . 2015
• Tortora GJ, Berdell R, Funke C L Microbiology an Introduction Case | University | Academia, 20th edition. 2018 [WWW Document], n.d. . Scribd. URL https://es.scribd.com/document/374901771/PDF-Ffu-PDF-Microbiology-an-Introduction-by-Gerard-J-Tortora-Berdell-R-Funke-Christine-L-Case (accessed 10.29.18).
• Two-Partner Secretion: Combining Efficiency and Simplicity in the Secretion of Large Proteins for Bacteria-Host and Bacteria-Bacteria Interactions. - PubMed - NCBI [WWW Document], n.d. URL https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28536673 (accessed 11.3.18).
• Viruses | Free Full-Text | Bacteriophages of Myxococcus xanthus, a Social Bacterium [WWW Document], n.d. URL https://www.mdpi.com/1999-4915/10/7/374 (accessed 10.29.18).
• Weiss, M.C., Preiner, M., Xavier, J.C., Zimorski, V., Martin, W.F., 2018. The last universal common ancestor between ancient Earth chemistry and the onset of genetics. PLoS Genet. 14, e1007518. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007518.

Capítulo 5
Fisiología bacteriana

Las células procariotas, al igual que las eucariotas, necesitan para vivir de la obtención de elementos del medio que las rodea. Estos elementos permiten que las bacterias generen la energía necesaria para todas las operaciones metabólicas esenciales para su vida, desarrollo, crecimiento y reproducción. Es importante saber que las bacterias se nutren del medio a través de mecanismos simples.
Además de los factores nutricionales, la temperatura y la presión parcial de oxígeno constituyen factores importantes para que la célula bacteriana lleve a cabo sus funciones correctamente, siendo las responsables de la supervivencia y evolución de la especie.
Factores nutricionales y de crecimiento
El agua es esencial para la vida y como tal, no es ajena para la vida de una bacteria. Más del 90% del peso corporal de una célula procariota está constituida por agua.
Además del agua, la célula puede necesitar de otros iones para realizar sus funciones metabólicas, es por ello que se nutre adquiriendo las moléculas que necesita desde el exterior (hábitat o medio ambiente) o sintetizándolas a partir de moléculas menos complejas. Según su importancia en el metabolismo, los nutrientes se clasifican en dos gru-pos: macronutrientes y micronutrientes.

Dentro de los macronutrientes encontramos:
· Carbono: la mayoría de las bacterias requieren como fuente de carbono los hidratos de carbono, compuestos como aminoácidos, ácidos grasos o compuestos aromáticos.
· Nitrógeno: que va a formar parte de las proteínas, los ácidos nucleicos y otros compuestos celulares.
· Fósforo: su presencia es esencial para los fosfolípidos y los ácidos nucleicos.
· Azufre: es fundamental en la constitución de los aminoácidos como la cisteína.
· Potasio y Magnesio: son requeridos para la función de gran variedad de enzimas.
· Calcio: tiene función en la estabilización de la pared celular y en la termorresis-tencia de las esporas de las bacterias esporuladas.
· Sodio: también tiene un papel importante, especialmente en aquellos microorga-nismos cuyo hábitat es el agua salada.
· Hierro: es un elemento importante en la cadena respiratoria ya que forma parte de los citocromos y de algunas proteínas implicadas en la cadena de transporte de elec-trones, algunas bacterias son capaces de producir sideróforos, que son moléculas capaces de captar hierro y llevarlo al interior de la célula como lo hace E. coli.

Los micronutrientes, también denominados trazas, porque son requeridos en pequeñas cantidades, son tan importantes como los macronutrientes, en su mayoría son metales que forman parte de las enzimas que actúan como catalizadores celulares, estos son: cromo, molibdeno, níquel, selenio y zinc.
Existen otros elementos que son también requeridos por las bacterias para crecer y se denominan Factores de crecimiento, son compuestos orgánicos que al igual que los micronutrientes son requeridos en pequeñas cantidades y por algunas especies. Estos son vitaminas (tiamina, biotina y piridoxina), aminoácidos, purinas y pirimidinas. Algunos microorganismos son incapaces de sintetizar estos compuestos, es por ello que los mismos se deben agregar a los medios de cultivo para favorecer su desarrollo.
Temperatura
Es uno de los factores ambientales más importantes que afectan el crecimiento y la supervivencia microbiana. A medida que aumenta la temperatura se sabe que las reacciones enzimáticas son más rápidas, pero por encima de cierta temperatura las prote-ínas, los ácidos nucleicos y otros componentes celulares se pueden dañar irreversiblemente. En cambio temperaturas muy bajas impiden el transporte de sustancias por la membrana plasmática. Por lo general las bajas temperaturas son inhibidoras del crecimiento microbiano y por ello son utilizadas para almacenar bacterias.
Por estas razones es que para cada microorganismo existe una temperatura óptima de crecimiento que asegura su mejor funcionamiento metabólico. Dependiendo de esta temperatura óptima de crecimiento, las bacterias se clasifican en:
Psicrófilas: La temperatura óptima es menor a 20°C. Existen algunas bacterias como las que habitan en el Círculo Polar Ártico que son capaces de sobrevivir a temperaturas extremas. Listeria monocytogenes es una bacteria patógena humana con estas características.

Mesófilas: Su temperatura óptima es de 35-37°C. Casi todas las bacterias de impor-tancia médica son mesófilas.

Termófilas: Algunas bacterias son capaces de desarrollar en manantiales o en otros medios como aguas termales. Su temperatura óptima es de 45 a 60°C. Algunas especies del género Pseusodomonas son el ejemplo.

Estearotermófilas: Son capaces de desarrollar a temperaturas superiores a los 60°C esta capacidad se las da la presencia de una estructura terciaria en sus proteínas que es estable al calor, como ejemplo Bacillus stearotermophilus utilizado para controlar sistemas de esterilización.

Necesidad de Oxígeno

Los microorganismos poseen un comportamiento diferente en cuanto a los requerimientos de oxígeno y/o tolerancia al mismo. Esta capacidad para desarrollarse o no en presencia de oxígeno va a depender de la capacidad enzimática que tenga cada microorganismo para contrarrestar las formas altamente tóxicas del oxígeno como son el peróxido de hidrógeno y el ión superóxido las cuales, son producidas en el pasaje de O2 a H2O en los procesos de respiración.
Algunas bacterias han desarrollado enzimas capaces de destruir estas formaciones tóxicas como son la catalasa, que actúa sobre el peróxido y la superóxido dismutasa que actúa sobre el ión superóxido.
Las bacterias según su comportamiento frente al oxígeno pueden ser:

Aerobias: desarrollan sólo en presencia de oxígeno por lo que poseen las dos enzimas, la catalasa y la superóxido dismutasa. Los más destacados son los patógenos respiratorios como Mycobacterium tuberculosis o Pseudomonas aeruginosa, un patógeno oportunista.

Anaerobios: el oxígeno es letal para su desarrollo ya que no poseen ninguna de las enzimas capaces de eliminar las formas tóxicas del mismo. La mayoría de las bacterias anaerobias forma parte de la flora normal del aparato digestivo humano por ejemplo Bacteroides spp. Estas bacterias para su desarrollo en el laboratorio requieren jarras de anaerobiosis, en este caso el aire de la jarra se sustituye por una mezcla de gases que en presencia de un catalizador, consume el oxígeno.

Anaerobias facultativas: Pueden crecer tanto en condiciones aerobias como anaerobias, por lo general poseen las dos enzimas pero, es la superóxido dismutasa, la que deben poseer especialmente para poder sobrevivir como en las enterobacterias.

Microaerófilas: Estos microorganismos son capaces de crecer en presencia de oxíge¬no pero no toleran la concentración del oxígeno atmosférico, es por ello que necesitan una disminución de la presión parcial de oxígeno, con una concentración de 5 a 10% de CO2.
Ejemplos de estos son Streptococcus spp. y Neisseria spp.

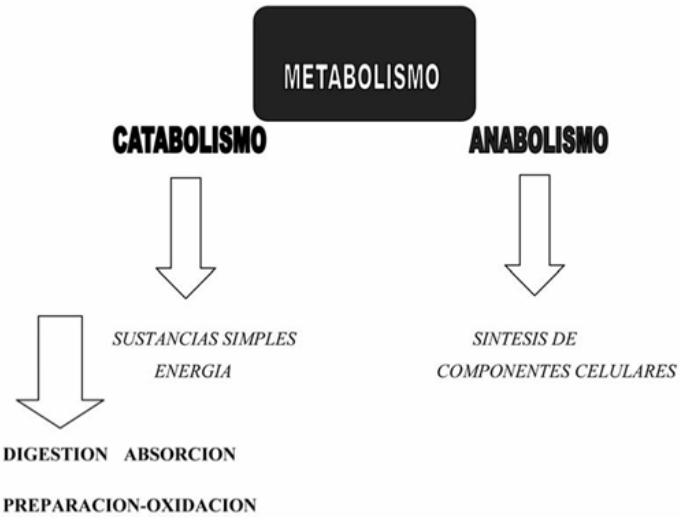
Metabolismo Bacteriano

Es el conjunto de reacciones químicas que se producen en las células vivas. Las célu¬las necesitan un suministro de energía para poder vivir. Tal energía en forma de ATP proviene del catabolismo ordenado de muchos sustratos orgánicos tales como hidra¬tos de carbono, proteínas y lípidos.

La etapa de descomposición de sustratos y conversión en energía disponible se conoce como catabolismo.
Esta energía producida, se puede utilizar posteriormente para la síntesis de los distintos componentes celulares tales como pared celular, proteínas, ácidos nucleicos, ácidos grasos; esto se conoce como anabolismo, constituyendo ambos procesos, el llamado metabolismo.
El metabolismo de las bacterias no se diferencia de aquél de los demás seres vivos. Las bacterias necesitan obtener del medio las sustancias nutritivas y la energía necesaria para la formación de sus estructuras y para la realización de sus funciones vitales.

El metabolismo comprende:
· Reacciones catabólicas o energéticas: Tienen por objeto la descomposición de los sustratos en sustancias más simples, con liberación de energía.
· Reacciones anabólicas o biosintéticas: En las que tales sustancias y la energía sintetizan los componentes de las bacterias. Estas reacciones en su mayoría obtienen la energía por la descomposición de sustancias orgánicas que las bacterias encuentran en su hábitat natural, mediante reacciones enzimáticas, que comprenden cuatro etapas. Digestión, Absorción, Prepa-

ración y Oxidación.
En todas estas etapas se producen reacciones exergónicas (liberan energía), pero sólo en la oxidación se libera la energía en forma utilizable para la bacteria.

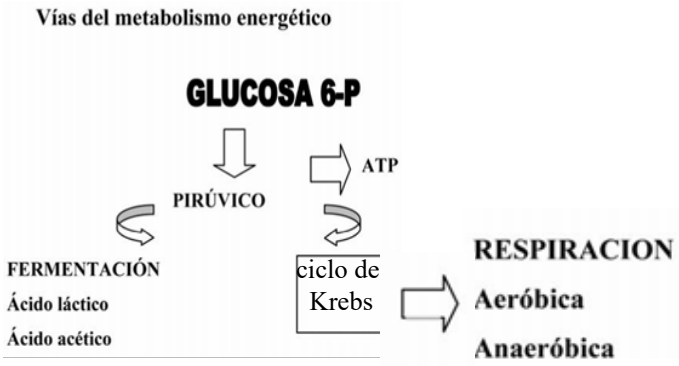


Digestión: Como los nutrientes orgánicos, animales o vegetales, que utilizan las bacterias (hidratos de car bono, lípidos y proteínas) son moléculas muy grandes para penetrar por la membrana citoplasmática, deben ser descompuestos por procesos hidrolíti-cos catalizados por enzimas. Así, las enzimas proteolíticas hidrolizan los enlaces peptídicos de las proteínas originando polipéptidos y oligopéptidos, que entran al interior de la bacteria donde las peptidasas intracelulares los degradan a aminoácidos.
De la misma manera, las bacterias actúan sobre los hidratos de carbono, hidrolizándolos y transformándolos en sacáridos, que son después absorbidos y fosforilados.
Finalmente los lípidos son degradados a ácidos grasos y glicerina y así absorbidos y metabolizados.
Absorción: las moléculas digeridas penetran a la bacteria por dos mecanismos.
En forma pasiva, por poros de la membrana citoplasmática, tal es el caso de las moléculas pequeñas, iones disueltos por solubilidad en los lípidos de la membrana. En forma activa, por un proceso de transporte específico de las moléculas facilitado por la acción de portadores y enzimas (permeasas).
Preparación: En el interior de la bacteria, a veces continúan los procesos hidrolíticos por endoenzimas, hasta llegar a un nutriente que es oxidado en forma directa o sufre transformaciones que lo preparan para hacerlo susceptible a la oxidación, mediante las oxidorreductasas.
Estas reacciones preparatorias suelen ser muy diversas, siendo la más importante la "fosforilación" que consiste en la unión de un grupo fosfórico activo, que lleva en su enlace la energía necesaria para que se inicien las etapas de oxidación, que liberan enormes cantidades de energía en forma de compuestos con enlaces fosfóricos de alto poder energético (ATP).
Oxidación biológica: llamado también proceso respiratorio. Son los que producen oxidación de sustancias orgánicas con liberación de energía, originando el ATP necesario para el crecimiento y formación de sustancias intermedias a la biosíntesis.
En general, la glucosa se oxida (se producen deshidrogenaciones sucesivas) con liberación de electrones, que son llevados por las llamadas "cadenas transportadoras" hasta un aceptor final, liberándose energía que se acumula como ATP.

Se puede producir de dos formas:
· Fosforilación oxidativa o respiración
· Fosforilación a nivel del sustrato o fermentación

La respiración consiste en la combustión de un sustrato, con la liberación de electrones e hidrógeno, capaces de reducir un aceptor final. La respiración es aeróbica cuando el aceptor final es el oxígeno y es anaeróbica cuando el aceptor final es otra sustancia diferente al oxígeno.
El transporte de electrones en las bacterias, se hace a través del FAD o del NAD pre-sente en la membrana citoplasmática de las mismas.
La respiración anaeróbica es similar a la respiración aeróbica, con la excepción del empleo de un conjunto distinto de citocromos, que donan electrones a moléculas inorgánicas como sulfato, nitrato, fumarato. Así los nitratos y los fumaratos son los princi-pales aceptores en bacilos Gram negativos del intestino, con formación de nitritos y succinatos, como elementos finales de reducción. La cadena transportadora es semejante a la aeróbica, pero las citocromo-oxidasas son remplazadas por otras enzimas, como por el ejemplo la nitrato-reductasa, para el caso de los nitratos como aceptores finales.
La fermentación es un proceso en el que se produce la combustión de un sustrato orgánico en ausencia de oxígeno, con la liberación de electrones e hidrógeno, que reduce una molécula orgánica. En la fermentación, en ausencia de oxígeno, la fosforilación a nivel de sustrato, representa el medio primario para la pro-

ducción de energía. El ácido pirúvico formado por la glucólisis, se transforma después en productos terminales característicos de cada especie bacteriana.
La glucosa pasa a ácido pirúvico, pero el H2 transportado por el NAD se reoxida nuevamente, dando lugar a diferentes productos ácidos. Según el predominio de éstos hay distintos tipos de fermentaciones: láctica, alcohólica, propiónica. En las levaduras por ejemplo, el metabolismo fermentativo conduce a la conversión del piruvato en etanol.



Bibliografia

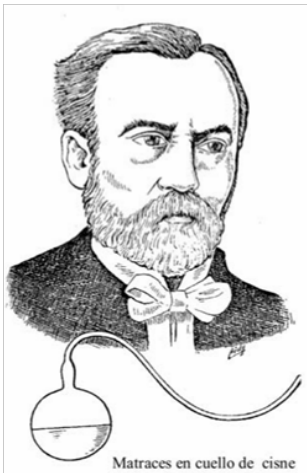
• Madigan, M et al. 2003. En: Brock Biología de los Microorganismos. Pearson Educación. 10ª Ed.
• Romero Cabello, R. 2007. Microbiología y Parasitología Humana. Editorial Panamericana, 3º Ed. México.
• Walker, TS. Microbiología. 2000. McGraw-Hill Interamericana (513 páginas).
• Varela, G. Fisiología y Metabolismo Bacteriano. In: Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina (Org.). Temas de Bacteriología y Virología Médica. Ed. 3, Montevideo, Oficina del Libro FEFMUR, 2008, v. 1, p. 65-90, ISBN: 9974312098 Áreas del conocimiento: Ciencias Médicas y de la Salud/Ciencias de la Salud/ Enfermedades Infecciosas. ISSN/ISBN: 9974-31202.

Capítulo 6

Acción de los agentes físicos y químicos en los microorganismos

Introducción

Louis Pasteur (1822-1895) y Robert Koch (1843-1910) fueron las grandes figuras del siglo XIX y sus aportes en la demostración de ciertos conocimientos científicos, han sido claves en lo referente a esterilización y medios de cultivo.



Matraces en cuello de cisne de L. Pasteur

Louis Pasteur

"*Pasteur creía que los fermentos, los bastoncillos y los microbios procedían del aire, e ideó aparatos complicados para demostrarlo. En los extremos de unos delgados tubos de vidrio metió algodón tratado para explosivos y del lado opuesto conectó una bomba de succión. Con las puntas que contenían el algodón hacia afuera de la ventana, hizo funcionar la bomba para que el aire del jardín penetrara a través del algodón, y con toda seriedad intentó contar el número de animalillos retenidos. Inventó toscos aparatos para poner estos algodones, impregnados de microbios, en caldos de levadura, con el fin de ver si se desarrollaban. Repitió el antiguo experimento de Spallanzani con un matraz esférico que llenó de caldo de cultivo para hervirlo después durante algunos minutos: los microbios no se multiplicaron en el matraz. Pero al hervir el caldo, calentó usted el aire del matraz, y para que el caldo de levadura engendre animalillos, necesita aire natural, pues al poner en contacto la sopa de levadura con el aire natural, sin calentar, se generan hongos, tórulas, vibriones o animalillos-decían desde sus cómodas butacas los partidarios de la generación espontánea, los evolucionistas, los botánicos incrédulos, todos aquellos hombres sin Dios. Vociferaban, pero no hacían experimentos.*

Para salir de este embrollo, Pasteur trataba de encontrar un procedimiento que le permitiera tener juntos aire sin calentar y caldo de cultivo hervido, y conseguir, al mismo tiempo, que las criaturas microscópicas no se multiplicaran. Trabajando a tientas tuvo innumerables fracasos, sin dejar de mostrarse animoso con los príncipes, profesores y publicistas que por aquel entonces acudían en tropel para contemplar sus milagros. Las autoridades académicas lo habían ascendido, o mejor dicho, descendido de aquella buhardilla infestada de ratas, a un pequeño edificio que constaba de cuatro o cinco reducidas habitaciones, situado a la entrada de la Escuela Normal.

En estas circunstancias, un buen día llegó Balard al laboratorio. Balard, que iniciara su carrera como boticario. Un boticario muy original que asombró al mundo científico con su descubrimiento del bromo, lo que verificó no en un laboratorio bien equipado, sino en el mostrador de una botica, y ese descubrimiento le aportó la fama de que disfrutaba y el nombramiento de profesor de química en París. Balard carecía de ambiciones, y no anhelaba realizar todos los descubrimientos posibles en el mundo; le bastaba con haber descubierto el bromo, pero era afecto a husmear lo que sucedía en los laboratorios ajenos.

-¿Dice Ud. que se encuentra en un atolladero?, ¿Que no ve la manera de juntar aire sin calentar su caldo hervido?-debió decir el perezoso Balard al desorientado Pasteur. Mire Ud., ninguno de los dos creemos que los animales nacen espontáneamente en el caldo; ambos creemos que caen o se introducen en él con el polvo contenido en el aire. ¿No es cierto?

- Sí, contestó Pasteur, pero...

- Espere -interrumpió Balard-. Necesita un matraz en el que pueda penetrar el aire, pero no el polvo.

- Más, ¿cómo?- preguntó Pasteur.

- Muy fácil- replicó el ya olvidado Balard-. Ponga el caldo dentro de un matraz esférico, ablande a fuego el cuello del matraz y estírelo hasta convertirlo en un tubo muy delgado, que doblará Ud. hacia abajo imitando el cuello de un cisne en actitud de sacar algo del agua. Algo así: - y Balard diseñó un boceto.

Pasteur comprendió al instante la magnífica sencillez de aquel ingenioso experimento. -Claro, así los microbios no podrán caer en el matraz, porque el polvo al que se adhieran no puede, naturalmente, caer ha-

cia arriba. ¡Maravilloso! Ahora lo veo perfectamente.
- Eso es, exactamente- contestó Balard, sonriendo-. Haga la prueba y vea que resultado obtiene. Ya pasaré por aquí otro día.
Y se marchó, para reanudar su alegre ronda de laboratorios.
Ya para aquella época, contaba Pasteur con mozos de laboratorio y ayudantes a los que ordenó preparasen a toda prisa los matraces. Poco después se escuchaba en el laboratorio el zumbido ensordecedor de los sopletes. El mismo atacó ferozmente su tarea; llenó los matraces con caldo de cultivo, fundió y estiró los cuellos, doblándolos hacia abajo como cuellos de cisne, rabos de cerdo, coletas de chino y otra media doce-na de figuras fantásticas. Hirvió los matraces con el caldo para que expulsaran el aire que encerraban, y al enfriarse, el aire que penetró era aire sin calentar, perfectamente limpio.
Una vez listos los matraces, con cómica dignidad Pasteur inició una serie de viajes a gatas a través de un agujero situado debajo de la escalera, para llevar los matraces, uno por uno, al horno de cultivo. A la mañana siguiente acudió antes que nadie al laboratorio, y si hubiéramos estado allí lo habríamos visto desaparecer por debajo de la escalera con un viejo cuaderno en la mano. Como el sabueso hacia el conejo, así era atraído Pasteur por el horno con los matraces de cuello de cisne. Familia, amor, almuerzo y todo el resto del insulso mundo no existían para él.
"De haber permanecido allí media hora más, lo habríamos visto salir a rastras, con ojos brillantes de alegría tras los empañados lentes. Tenía derecho a esta felicidad, porque todos y cada uno de los matraces de cuello encorvado en los que había hervido el caldo de levadura, permanecían perfectamente claros; no había en ellos ni un solo ser vivo, y así siguieron al día siguiente, y al otro. Era indudable que el sistema de Balard fun-cionaba. No cabía duda que la generación espontánea era un disparate." (Los Cazadores de Microbios. 1938. De Kruif, Paul. Buenos Aires).

¿Cuál es la utilidad de la esterilización, desinfección y antisepsia?

La esterilización permitió demostrar a Pasteur que la vida provenía de la vida. Que cuando lograba esterilizar un caldo no aparecía luego ningún "animalículo". Para aislar un microorganismo de un proceso infeccioso, es necesario inocularlo en un sistema estéril. El cultivo de los microorganismos se realiza siempre en condiciones estériles. ¿Cómo podríamos interpretar un desarrollo bacteriano en un medio de cultivo no estéril? Si el sistema está contaminado con otras bacterias resulta imposible identificar cuáles bacterias pertenecen a la muestra clínica. Por otra parte la presencia de microorganismos contaminantes establece una competencia por los nutrientes necesarios para aislar aquel otro agente presente en el material inoculado proveniente del paciente
Los cultivos celulares necesarios para el aislamiento de agentes virales también se trabajan en condiciones de esterilidad. Las células, como un sistema viviente, entran en lisis cuando se contaminan con bacterias u hongos.

Definiciones
Esterilización: Es el conjunto de operaciones destinadas a eliminar o matar todos los microorganismos presentes en materiales y sustancias, incluyendo las esporas, que son las formas de mayor resistencia de las bacterias. Es un estado absoluto: un objeto es estéril; o no lo es. Utilizamos procedimientos físicos o químicos.
Desinfección: Conjunto de operaciones destinadas a destruir o inhibir los microorganismos presentes en objetos inanimados. No necesariamente destruye todos los microorganismos. Utilizamos procedimientos físicos o químicos.
Antisepsia: Conjunto de operaciones destinadas a destruir o inhibir los microorganismos presentes sobre tejidos vivos: piel y mucosas (flora normal). Utilizamos procedimientos químicos.

Esterilización, desinfección y antisepsia son conceptos clave en casi la mayoría de las actividades que desarrolla un médico, respetarlos es de fundamental importancia para prevenir infecciones evitando la diseminación en las personas, en la comunidad, y en las instituciones médico asistenciales.

Este tipo de actividades están protocolizadas y reguladas por los Comités de Control de Infecciones, constituyen temas de agenda en todos los Programas de Control de Infecciones. En los últimos veinte años ha habido un interés creciente por normatizar estos procedimientos en todas las instituciones hospitala-

rias en relación a la Prevención de las Infecciones Nosocomiales y la emergencia de cepas con Resistencia a los Antimicrobianos. El desarrollo y disponibilidad de técnicas de Epidemiología Molecular como Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR) y, Electroforesis de Campo Pulsado (PFGE), por ejemplo, permiten estudiar la relación clonal entre cepas que se aíslan durante un brote nosocomial y definir la procedencia desde dispositivos implantados u otras fuentes posibles de infección. Esto deviene en serias consecuencias ëtico-legales que todos los profesionales médicos deberían conocer por lo que resulta imprescindible el manejo del conocimiento disponible sobre estos temas.

Mecanismos de acción

Los agentes físicos y químicos pueden afectar la estructura de los microorganismos y producir inhibición o muerte por diferentes mecanismos.

Los mecanismos son variados y complejos. Con frecuencia se producen alteraciones secuenciales o simultáneas que dificultan la diferenciación entre efectos primarios y secundarios.

De acuerdo al mecanismo de acción y a la estructura bacteriana sobre los que actúan, básicamente se clasifican en 3 grandes grupos:

1. Agentes que actúan por alteración del núcleo

Por este mecanismo actúan las radiaciones (ultravioletas, ionizantes) interfiriendo en la replicación del ADN y los agentes alquilantes (formaldehído, glutaraldehído y óxido de etileno) por combinación con los grupos sulfhidrilos de las nucleoproteínas.

2. Agentes que actúan sobre proteínas y enzimas: El efecto es múltiple:

a) se produce fragmentación de la estructura terciaria de la proteína por lo que ésta deja de funcionar. Esto se denomina desnaturalización de las proteínas. (Ejemplo: calor, ácidos y álcalis).

b) efecto tóxico sobre las enzimas (por oxidación y efecto alquilante) principalmente aquellas del sistema respiratorio. Ejemplo: halógenos, peróxido de hidrógeno.

c) formación de compuestos con los radicales libres interfiriendo en el metabolismo. Por ejemplo, ciertas enzimas funcionan solamente si tienen los grupos sulfhidrilos libres (metales pesados como el mercurio).

3. Agentes que actúan sobre la membrana citoplasmática:

Producen alteraciones de la organización estructural, por ende de las propiedades físicas y químicas de la membrana (por combinación con los lípidos y lipoproteínas) impidiendo su función normal (barrera osmótica, transporte activo). Ejemplo: agentes tensioactivos, fenoles, clorhexidina y alcoholes.

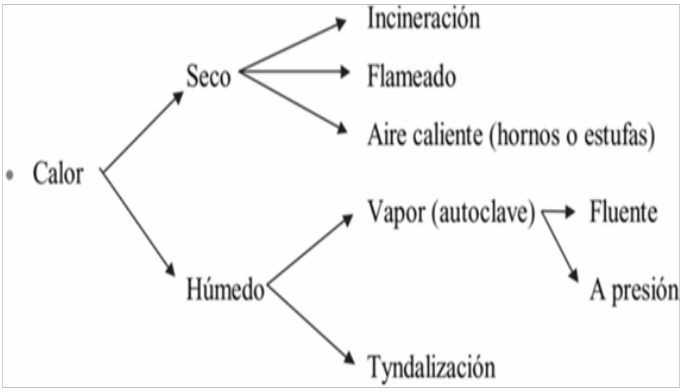
Factores que afectan a la potencia desinfectante

Los agentes químicos actúan produciendo la muerte de los microorganismos mediante un proceso que, en esencia, es de naturaleza química, pero modificado por las características propias de los gérmenes y por influencias de orden físico ejercidas tanto sobre los microorganismos como sobre el agente.

Estos factores son: tiempo, temperatura, pH, concentración del agente, presencia de materia orgánica y características de los microorganismos.

Esterilización

Agentes físicos



- Radiaciones.
- Filtración.
- Ultrasonido.

Agentes químicos

- Oxido de etileno.
- Glutaraldehído
- Plasma
- Ozono

Agentes físicos Incineración:

- Combustión directa u horno crematorio.
- Para destrucción de objetos muy contaminados: ropas, apósitos, descartables, etc.

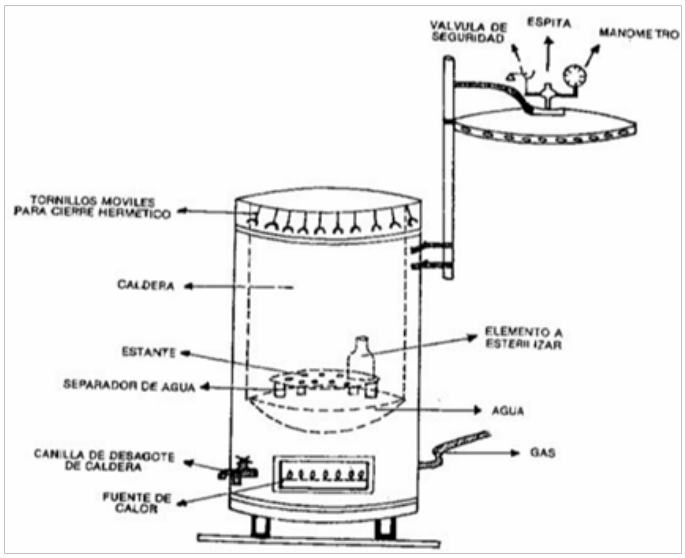
Flameado:

- Mechero de Bunsen.
- Esterilización de ansas bacteriológicas, agujas, bocas de los tubos en el laboratorio.

Aire caliente:
• Horno de Pasteur o estufas.
• La sensibilidad de las bacterias al calor seco es inferior que al calor húmedo.
• Es lento y requiere temperaturas superiores porque es menos penetrante (180º C por 30', 170º C por 1 hora o 160º C por 2 horas).
El tiempo se toma desde el momento en que se alcanza la temperatura adecuada. 62

El aire caliente es el método utilizado para objetos de vidrio, instrumentos de metal, materiales termoestables que son afectados por la humedad (polvos, aceites, vaselina, parafina).

Calor Húmedo: Vapor (Autoclave de Chamberland)



Vapor fluente (espita abierta)
• La temperatura que se alcanza es de 100°C por lo que se requiere un plazo más largo para actuar sobre las esporas.
• Se utiliza para sustancias termolábiles a más de 100°C, como los azúcares o medios con leche.
Vapor bajo presión (espita cerrada)
• Es el método más utilizado y más seguro para la esterilización de materiales de labo-ratorio, medios de cultivo, materiales quirúrgicos, ropa (ambos, ropa de cama, etc.)
• La presión "per se" no actúa sobre los microorganismos, pero es necesaria para ele-var la temperatura del calor húmedo.
• Una temperatura de 121°C durante 15 minutos o de 134°C durante 7 minutos mata las esporas.
• Las temperaturas alcanzadas son:
1 atmósfera - 121°C
1,5 atmósferas - 126°C
2 atmósferas - 134°C
Se debe considerar el tamaño y contaminación de la carga (materiales a esterilizar) cuando se determinan las condiciones del ciclo del autoclave (temperatura y tiempo).
• Al utilizar el autoclave hay que tener en cuenta que el aire sea reemplazado en su totalidad por vapor saturado mientras está la espita abierta. Si no es así una parte de la presión registrada corresponderá al aire y no al vapor y no se obtendrá la temperatura adecuada. Se cierra la espita cuando comienza a salir un chorro de vapor continuo. Luego se consigue la presión deseada y a partir de allí se contabiliza el tiempo necesario.
• Este método no sirve para la esterilización de objetos termoestables que sean afectados por la humedad.

Tyndalización (Esterilización fraccionada - Calentamiento intermitente)
•Se realiza un calentamiento a 80ºC durante media hora; luego se incuba en estufa de cultivo (35–37ºC) durante 24 hs. Se repite durante 3 a 5 días sucesivos.
El fundamento de este método es que con el calentamiento destruimos todos los microorganismos excepto las esporas. Al realizar la incubación las esporas pasan a formas vegetativas que serán destruidas en el próximo calentamiento.
• Se utiliza para aquellos líquidos que no resisten altas temperaturas: extractos globulares, líquido ascítico.
Actualmente no es de gran aplicación porque ha sido reemplazada por la filtración por membrana.
Radiaciones:
• Se utilizan las radiaciones ionizantes (rayos X, rayos gamma)
• Se considera que los rayos gamma son el método de mayor eficiencia y seguridad en Salud Pública.
• La fuente de radiación gamma más utilizada es el Cobalto 60.
• Entre las ventajas están la gran penetrabilidad y la posibilidad de ser usadas en elementos que no soportan el calor ni la humedad.
• Las desventajas consisten en las medidas de seguridad necesarias y en su costo.
• Se utilizan para esterilizar jeringas plásticas, catéteres, guantes, materiales de sutura (artículos médicos) y es el mejor método para la esterilización de material

de origen biológico (medicamentos, alimentos).

Filtración:
• Consiste en hacer pasar un líquido por un material poroso (membranas filtrantes) que retiene los microorganismos.
• Se utiliza para sustancias que son alteradas por el calor: sueros, soluciones de enzi-mas, toxinas bacterianas, líquido ascítico.

Filtros de aire: (filtros de flujo laminar)
• Son láminas de acero y poliestireno.
• Filtros HEPA (High Efficiency Particulate Air).
• No permiten el paso de partículas superiores a 0,3 um con lo que el aire impulsado a través de ellas es prácticamente estéril.
• Sirven para los sistemas de control de aire (de paso unidireccional en los cuales se puede controlar también la temperatura, la humedad y la velocidad) en unidades de aislamiento (prematuros, quemados, pacientes bajo tratamiento inmunosupresor, etc.) y las cabinas de seguridad biológica de flujo laminar para uso microbiológico.

Ultrasonido:
• Se utilizan ondas sonoras de alta frecuencia.
• Una aplicación es los limpiadores ultrasónicos, que consisten en tanques llenos de líquido a través del cual se propagan las ondas sonoras donde se colocan los objetos (metálicos, de vidrio o de plástico). A medida que las vibraciones atraviesan el líquido se producen espacios vacíos (burbujas) que por su acción mecánica desalojan la suciedad de la superficie de los objetos.
•También se utilizan para la separación de los distintos componentes de las bacterias y los virus para la obtención de los antígenos que se utilizarán en la preparación de vacunas.
• Cuando se usan frecuencias superiores a 18.000 ciclos por segundo el ultrasonido tiene acción directa sobre las bacterias actuando por desnaturalización de las proteínas, lo que conduce a la muerte bacteriana.

Agentes Químicos
Óxido de etileno:
• A temperatura ambiente es un gas, que al combinarse con el aire forma una mezcla explosiva, de manera que cuando se lo utiliza se le debe adicionar CO2.
• Tiene gran poder de penetración.
• Su capacidad esterilizante está relacionada con la temperatura y la humedad. Para obtener resultados satisfactorios se necesitan 4 horas a 58ºC y humedad aproximada del 40%. Si se utiliza a temperatura ambiente, el tiempo de contacto no debe ser menor de 12 horas.
• Como es tóxico, se deben ventilar muy bien los objetos antes de ser utilizados. Si no se cuenta con las cámaras de aireación, se deben mantener en los lugares de alma-cenamiento comunes, por lo menos una semana antes de ser utilizados.
• Además de altamente tóxico, es mutagénico y carcinógeno. De esto se deduce que es necesario una protección especial para el personal que manipula el material para descargar el esterilizador. Ocasiona irritación ocular y de vías respiratorias y a largo plazo puede tener efectos carcinógenos, alteraciones reproductivas y mutagénicas.
• Se aplica a objetos termolábiles como catéteres, hilos, válvulas y prótesis, materiales de plástico, equipos electrónicos, etc.

Glutaraldehído:
• Es menos tóxico y más efectivo que el formaldehído.
• Se utiliza al 2% en solución acuosa (es ácido).
• Antes de usarlo debe ser “activado” (es decir alcalinizado).
• El tiempo de uso del glutaraldehído activado es de 14 días.
• Es bactericida, tuberculicida (Mycobacterium spp.) y viricida en 10 minutos.
• De todas maneras para garantizar el efecto tuberculicida el tiempo debe ser por lo menos de 30’.
• Tiene efecto esporicida, pero el tiempo de contacto no debe ser menor de 10 horas a temperatura ambiente.
• Si se utiliza a una temperatura de 70°C es esporicida en 5’ (tanto el ácido como el alcalino).
• Luego de su uso deben enjuagarse los objetos con abundante agua estéril.
• Se utiliza para objetos de plástico e instrumentos de cirugía.

Esterilización por Plasma
Es un método moderno y costoso. Se utiliza plasma a baja temperatura. Resulta en radicales libres que destruyen rápidamente microorganismos y esporas.
Consiste en una cámara cerrada al vacío, un campo electromagnético y un precursor químico (peróxido de hidrógeno o peróxido de hidrógeno más ácido

acético. Se colocan los instrumentales médicos en la cámara, se genera un potente vacío y se inyecta una solución de agua y 59% de peróxido de hidrógeno. Esta se vaporiza y se difunde a lo largo de toda la cámara y alrededor de los ítems a esterilizar. Se aplica radiofrecuencia para crear un campo eléctrico, el cual genera el plasma a baja temperatura, que induce formación de radicales libres. Se eliminan todos los residuos potencialmente dañinos.

Esterilización por OZONO
Es un método moderno que se utiliza en Canadá. Su ventaja radica en que no es tóxico y por lo tanto el material no requiere ser aireado posteriormente.

Desinfección - Antisepsia
1 - Agentes físicos: solo usados para desinfección
• Calor húmedo: ebullición y pasteurización
• Radiaciones: no ionizantes

Ebullición
• 100°C.
• Es un método de desinfección, ya que no es confiablemente esporicida en un plazo práctico.
• Además los objetos hervidos se vuelven a contaminar con facilidad porque no están provistos de envase protector.
• Las formas vegetativas son destruidas en 10-30 minutos.
• Para los virus de la Hepatitis B y de la Inmunodeficiencia Humana se necesitan como mínimo 30 minutos.

Pasteurización
• Se utiliza principalmente para la leche, pero también para vinos, cerveza, jugos, etc.
• El objetivo de esta técnica es la eliminación de bacterias patógenas que se trans-miten por la leche (agentes productores de tuberculosis, brucelosis, fiebre tifoidea) y ya que éstas no son esporuladas y son destruidas a temperaturas relativamente bajas, la pasteurización es útil para este fin, es de menor costo que la esterilización.

Técnica
• Pasteurización baja: 63°C - 30'
• Método rápido, pasteurización alta (llamada también Stassanización): 72-75°C – 15 minutos.
• Posterior al calentamiento, la leche es enfriada inmediatamente a una temperatura no mayor de 8ºC.
Radiaciones
• Rayos ultravioletas (UV) (absorbidos).
• Dada su baja penetrabilidad actúan sólo en superficie, destruyendo aquellos microorganismos directamente expuestos a los rayos. De esto se deduce que es un método de desinfección.
• Se utilizan para reducir la población bacteriana del aire o superficies en salas de pre-maturos, quirófanos, mediante el uso de las llamadas "lámparas germicidas" (Sterilamp - Son lámparas de vapor de mercurio de baja presión).
• Otra utilización es en las cámaras bacteriológicas de rayos UV, para protección del personal de laboratorio (cuando se manipulan bacterias o virus de alta peligrosidad).

2- Agentes químicos
Desinfectantes .....Antisépticos
alcohol.....alcohol
fenol.....clorhexidina
jabones.....jabones
detergentes.....detergentes
soluciones cloradas.....soluciones yodadas
ácidos y álcalis.....metales pesados
formaldehído.....peróxido de hidrógeno

Alcoholes
Alcohol etílico o isopropílico (al 70%).
El 70% es la concentración óptima.
Concentraciones menores de 45% tienen una actividad antimicrobiana lenta e incierta. Se utilizan para desinfección y antisepsia.
Desinfección de superficies externas de equipos y objetos (por ejemplo termómetros). Antisepsia de la piel. El etanol al 70% mata casi el 90% de las bacterias cutáneas en 2´, siempre que el área se mantenga humedecida durante ese tiempo. Hay que tener siempre en cuenta el tiempo de contacto.
No se emplean para antisepsia de lesiones abiertas porque forma un coágulo en las heridas bajo el cual pueden desarrollar luego las bacterias.
También producen deshidratación de la piel.

Fenoles y derivados
Tanto el fenol como sus derivados actúan en presencia de materia orgánica. Actualmente debido a su olor y toxicidad ya prácticamente no se usa y ha sido reem-plazado por derivados menos cáusticos y menos

tóxicos.
Hexaclorofeno al 3%
Es más activo sobre bacterias Gram positivas (las bacterias Gram negativas pueden incluso llegar a desarrollar en el hexaclorofeno). Por su comprobada toxicidad (produce daño cerebral) es de uso restringido y sólo se lo utiliza en antisepsia de las manos del personal médico (incorporado también a jabones). No se usa sobre mucosas.

Cresoles (Creolina)
Se utiliza para desinfección casera y del laboratorio. Incorporados a jabones se usan en limpieza de pisos de hospitales y clínicas, excusados, lavabos. Los derivados en general se preparan con jabones por su baja solubilidad en agua.

Clorhexidina (Solución acuosa al 2- 4%)
En la actualidad es uno de los antisépticos más utilizados junto con la iodopovidona. Puede utilizarse en solución acuosa o alcohólica asociado a detergentes no iónicos (para el lavado de manos) o a un compuesto de amonio cuaternario (aumenta el poder del antiséptico).
Se utiliza para antisepsia de manos, también para baños prequirúrgicos con jabón, para antisepsia de heridas y buches.
Destruye la membrana celular causando pérdida de los constituyentes celulares y coagulación del contenido de bacterias Gram positivas y Gram negativas. Previene el recrecimiento o la proliferación por aproximadamente seis horas (efecto deseable por ejemplo, para cirugía): la reducción sostenida sostenida de la microbiota genera menos riesgo de infección.
Este compuesto tiene menos efecto sobre esporas bacterianas y hongos, excepto a altas temperaturas. Con respecto a las micobacterias, se inhiben, pero no mueren con la aplicación soluciones acuosas. La mayoría de hongos y dermatofitos son sensibles. Es efectiva contra virus cubiertos, como VIH, Virus Influenza y Herpes. No es efectiva contra virus desnudos. No se afecta su acción en presencia de materia orgánica ni de sangre.
Existe el inconveniente que puede contaminarse con microorganismos, y generar genes de resistencia, en bacilos Gram negativos y S. aureus.
En general la clorhexidina es muy bien tolerada por la piel, hay baja incidencia de reportes acerca de irritación e hipersensibilidad cutáneas, pero ha habido casos de anafilaxia. En niños menores de dos años hay evidencias sobre efectos adversos.

Detergentes y jabones
Disminuyen la tensión superficial o interfásica.
Son menos efectivos sobre bacterias Gram negativas por su membrana externa lipopol isacárida. Los más utilizados son los aniónicos (jabones aniónicos) y catiónicos (detergentes sintéticos).

Detergentes sintéticos (catiónicos):
Dentro de estos principalmente los de amonio cuaternario. Tienen mayor actividad a pH alcalino. Son efectivos sobre bacterias Gram positivas y algunos virus pero no son esporicidas ni tuberculicidas. También Pseudomonas spp. parece ser refractaria.
Su acción es interferida por materia orgánica y son neutralizados por jabones y detergentes aniónicos. Según el Center Disease Control (CDC) deben utilizarse como desinfectantes (saneamiento ambiental) y no como antisépticos (pueden producirse brotes de infecciones por detergentes contaminados).

Jabones aniónicos:
Tienen mayor actividad a pH ácido. Son sales de Na y K, de ácidos grasos superiores.
Actúan principalmente por eliminación mecánica de los microorganismos de la piel. Esta tarea la realizan emulsionando la capa oleosa de la piel, que contienen las bacte-rias, aunque también actúan sobre la membrana citoplásmica de las bacterias. Algunos jabones tienen adicionadas otras sustancias bactericidas o bacteriostáticas (sales de Hg, Hexaclorofeno). Se utilizan para higiene personal, de laboratorios, quirófanos, etc.

Halógenos (Cloro e Iodo)
Son inhibidos por materia orgánica y son bactericidas.
Cloro y compuestos
El más usado es el hipoclorito de sodio, en solución acuosa al 0,3 % (0.1-0.5 % de cloro disponibles). Las diluciones a partir de la lavandina se harán de acuerdo a la situación de desinfección (si los materiales están contaminados o no, por ejemplo). Para los materiales contaminados la dilución es 1:10. Como es inestable deben usarse soluciones frescas y se deben proteger de la luz y el calor. Es corrosivo para metales oxidables. Actúa sobre los Virus de la Hepatitis B y VIH.

Se utiliza para la desinfección de superficies e instrumentos de laboratorio. Hay otros compuestos que se presentan en forma de polvo o tabletas (Cloramina).
Iodo y compuestos
Es uno de los más utilizados para antisepsia de heridas y de la piel. A pesar que su acción está disminuida por la presencia de materia orgánica, los preparados comerciales tienen gran exceso de iodo para contrarrestarla.

Tintura de Iodo: en solución etanólica que facilita la difusión y penetración. Puede causar trastornos alérgicos.

Iodóforos: Son compuestos inestables de Iodo, con un transportador orgánico que aumenta su solubilidad y constituye un reservorio de liberación sostenida del elemento. El más usado es la Iodo-Povidona cuya molécula de transporte es la polivinilpirrolidona. Son menos activos, pero no irritan ni son tan alergénicos como las tinturas. Se pueden utilizar también para desinfección de instrumental, pero deben prepararse en el día.

Ácidos y álcalis
Las micobacterias son relativamente resistentes y necesitan mayores concentraciones para ser destruidas (sobreviven al Na (OH) al 4%). Son bactericidas. Pero este efecto depende directamente del grado de disociación iónica (pH).

Ácidos
Ácido acético al 1%: se lo emplea en el cuidado de las quemaduras, debido a que Pseudomonas aeruginosa es particularmente susceptible. Esta bacteria es una de las patógenas principales en infecciones de los quemados.
Ácido peracético: es efectivo en presencia de materia orgánica, no corrosiva y actúa a bajas temperaturas. Su uso más difundido actualmente es en la desinfección de dializadores asociados al peróxido de hidrógeno.

Álcalis
Soda cáustica (Na (OH)). Agua de cal (Ca(OH)2). Se pueden utilizar para desinfección. Por ejemplo la soda cáustica en soluciones débiles para la limpieza de utensilios.
Metales pesados (Mercurio)
Los únicos compuestos más utilizados son los mercuriales orgánicos: timeroxal o timerosal (merthiolate, marca registrada). Se utilizan como antisépticos. Su acción está disminuida por materia orgánica. El merthiolate es una sustancia que contiene mercurio y que alguna vez se usó ampliamente como antiséptico y preservativo en muchos productos diferentes, incluso vacunas. La intoxicación con merthiolate ocurre cuando se ingieren grandes cantidades de la sustancia o éstas entran en el contacto con la piel. La intoxicación también puede ocurrir si uno constantemente se expone a cantidades pequeñas de merthiolate por un período de tiempo prolongado.

Parlamentarios aprueban Ley que prohíbe el uso del timerosal en vacunas
La moción prohíbe el uso del compuesto en los programas de vacunación a niños, embarazadas y adultos mayores, modificando el Programa Nacional de Inmunizaciones (PNI).
por Catalina Rojas O. - 15/01/2014 - 16:17

Esta tarde la Cámara de Diputados aprobó el proyecto de Ley que prohíbe el uso de timerosal en dosis de vacunas. La ley obtuvo 85 votos a favor e ingresó al parlamento en 2010.
La iniciativa prohíbe la fabricación, importación y suministro de todo tipo de vacunas destinada a menores de ocho años, embarazadas y adultos mayores, que entre sus componentes contengan timerosal o compuestos organomercúricos.
El argumento que trascendió tras la aprobación de esta Ley, sugiere loseventuales daños neurológicos, específicamente autismo, que podría ocasionar el efecto de las trazas de mercurio contenidas en el compuesto que se usa como preservante.
En medio de la tramitación del proyecto, expertos del Ministerio de Salud se han manifestado en contra de la moción, presentando estudios respaldados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y otros organismos internacionales, que descartan una relación entre el autismo y el timerosal en las vacunas.
La nueva norma obligará entonces, a generar cambios en el Programa Nacional de Inmunizaciones (PNI).

TIMEROSAL EN LA INDUSTRIA MUNDIAL
Se trata de la forma más utilizada de presentación de las vacunas y se emplean en todo el mundo.

Desde la Organización Mundial de la Salud (OMS), el tiomersal es descrito como un "compuesto orgánico que contiene cantidades muy pequeñas de mercurio y se utiliza para evitar el crecimiento de bacterias y hongos en algunas vacunas inactivadas (con virus muertos)"
Este compuesto se utiliza en la industria desde los años treinta en la fabricación de vacunas y medicamentos.
Algunas de las vacunas que contienen timerosal son la que se utiliza contra la difteria, el tétanos y la tos ferina (DTP), la hepatitis B, la rabia, la gripe, entre otras.

Formaldehído
Se presenta en forma de solución acuosa al 37-40% (Formalina). A partir de ésta se realizan las diluciones finales: 3 al 8% (de acuerdo a su utilización).
La formalina al 8% puede destruir las esporas, pero el tiempo de contacto no debe ser menor de 18 horas a temperatura ambiente.
Al igual que con el glutaraldehído se puede acelerar su acción con el aumento de la temperatura (por ejemplo, en combustión con vapor saturado a 70-75ºC).
Se utiliza para desinfección hospitalaria (instrumentos, guantes, en el mismo laboratorio), no para esterilización. Los materiales deben seguir el mismo tratamiento que con óxido de etileno y el glutaraldehído.
También se aplica en la preparación de vacunas: al 0.2 - 0.4% (bacterias o virus inactivados).
Actualmente su uso está muy restringido porque es tóxico, irritante y corrosivo, por lo que ha sido reemplazado por el glutaraldehído.

Peróxido de hidrógeno: Agua oxigenada (H2O2)
Se utiliza al 3-6 %. Se debe partir de una solución madre al 30%. De allí se hacen las diluciones para la solución final. La solución al 30% debe manipularse y transportarse con precaución porque es corrosiva. También debe ser almacenada en frascos oscuros protegidos de la luz. La solución final debe prepararse inmediatamente antes de usar. Se utiliza para antisepsia y desinfección.
Antisepsia: en la limpieza de heridas (pero hay que tener en cuenta que la presencia de catalasas y materia orgánica disminuye su efectividad).
Desinfección: en los últimos años ha aumentado su uso para la desinfección de dispositivos médico-quirúrgicos y de lentes de contacto blandas.

Asociación de desinfectantes
Es la tendencia actual para facilitar la penetración en la célula, para obtener mayor rapidez de acción o para disminuir los efectos tóxicos.
Por ejemplo: detergentes aniónicos o catiónicos con Iodo o Clorhexidina, mercuriales orgánicos (timerosal) con detergentes aniónicos y fenoles.
Niveles de desinfección
Actualmente se continúa utilizando la clasificación propuesta por Spaulding en 1972, basada en el tipo de microorganismo que destruyen.

Desinfección de alto nivel
Los desinfectantes que se utilizan actúan sobre bacterias en fase vegetativa, Mycobacterium tuberculosis, hongos y virus (incluidos VIH y virus de la Hepatitis B). Se utilizan las mismas concentraciones que para esterilizar, pero por un tiempo menor. El tiempo de contacto es de 20-30 minutos.
Agentes:
Glutaraldehído (2%).
H2O2 estabilizada (6%).
Ácido peracético (1%).
Hipoclorito de sodio (0.1 - 0.5%).
Formaldehído (4%).

Desinfección de nivel intermedio
Los agentes actúan sobre bacterias en fase vegetativa, la mayoría de los hongos y virus cubiertos.Tienen poca actividad sobre Mycobacterium tuberculosis y virus desnudos.El tiempo de contacto es de 10 minutos.
Agentes: fenoles, iodóforos y alcoholes.

Desinfección de bajo nivel (Saneamiento)
Los agentes actúan únicamente sobre bacterias en fase vegetativa (no sobre Mycobacterium tuberculosis) y algunos hongos y virus. El tiempo de contacto es de 10 minutos. Agentes: alcoholes, hipoclorito de sodio, fenoles, iodóforos y agentes tensoactivos (catiónicos).
La selección del método a utilizar (esterilización- desinfección) está determinada por la situación específica y por el hecho que sea necesario destruir algunos o todos los microorganismos.
Por esto, de acuerdo a la situación, se ha realizado la siguiente clasificación.
a) Items críticos:
Métodos invasivos en tejidos estériles o en el sistema

vascular:
Instrumentos quirúrgicos.
Catéteres urinarios y cardíacos.
Implantes.
Agujas.
Endoscopios, laparoscopios, artroscopios (aunque generalmente en estos se hace desinfección de alto nivel).
Método utilizado: Esterilización.
b) Items semicríticos:
Objetos que toman contacto con las mucosas y piel no intacta:
Equipos de anestesia.
Dializadores.
Respiradores.
Termómetros (nivel de desinfección alto o medio según las circunstancias)
Método: Desinfección de alto nivel (los compuestos clorados son de uso restringido por sus efectos corrosivos).
c) Items no críticos:
Contacto con piel intacta. Es difícil que transmitan primariamente los microorganismos pero pueden hacerlo circunstancialmente por contaminación de las manos.
Chatas.
Tensiómetros.
Ropa blanca.
Mobiliario.
Utensilios de comida.
Pisos.

Método: Desinfección de bajo nivel.
Controles de sistemas de esterilización
Para controlar los sistemas de esterilización se utilizan:
Controles físicos
Controles químicos
Controles biológicos
Controles físicos:
Se utilizan para verificar el funcionamiento correcto del aparato de esterilización (ter-mómetros, manómetros).

Controles químicos:
Son tiras de papel impregnadas en sustancias químicas que viran de color cuando el aparato de esterilización alcanza determinada temperatura.
Sólo indican que hubo pasaje del material a ser esterilizado por el sistema utilizado, pero no garantizan esterilidad.
Controles biológicos:
Se utilizan las esporas del género Bacillus. Debido a que la espora es la forma más resistente conocida entre los microorganismos, su destrucción por un sistema de esterilización garantiza el funcionamiento de dicho sistema. Es el método de control que asegura la eficacia de la esterilización.
Para control de autoclave se emplean esporas de Bacillus stearothermophilus, y para estufa y óxido de etileno esporas de Bacillus subtilis variedad globigii.

Bibliografia

• Esterilizacion y desinfeccion. Rafael vignoli. http://www.higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2027.pdf.
• Principios generales de la desinfección. R.F. Kahrs. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 1995,14 (1), 143-163.

Capítulo 7
Microbiota y microbioma

Introducción

La Microbiota, (antes llamada flora normal) es el conjunto de microorganismos que normalmente colonizan piel y mucosas. El cuerpo humano normalmente contiene miles de especies de bacterias y menor número de virus, hongos y protozoarios. No transportamos todos los microorganismos durante todo el tiempo. En un momento dado, cada uno de nosotros posee un espectro determinado de especies. . Dichos microorganismos superan diez veces en cantidad a las células somáticas y germinales.

Microbioma se refiere al conjunto de genes de los microorganismos que constituyen una comunidad microbiana y que ocupan un hábitat específico.

Los seres humanos somos un conjunto de células microbianas y humanas cuyos genes han coevolucionado y forman parte de un SUPRAORGANISMO. La microbiota mantiene una relación simbiótica con el hospedador, juega un rol fundamental en la salud y la enfermedad en los seres humanos. Incluso se la ha llamado "el órgano olvidado" (O Hara y Shanahan, 2006).

Hasta hace poco se consideraba que el feto estaba libre de microorganismos hasta el nacimiento, momento en el cual comenzaba la colonización del aparato gastrointestinal, a partir de la cavidad oral y dependiente de la exposición al medio extrauterino. Recientes estudios han demostrado que el desarrollo de la microbiota intestinal se programa desde la vida intraútero, y también hay evidencias que existen bacterias en el líquido amniótico de neonatos sanos (Jimenez et al 2008). Además, la presencia de bacterias procedentes de la microbiota intestinal y cutánea de origen materno en tejidos placentarios demuestra la transferencia microbiológica materno-fetal.

Proceso de Colonización

Tras el nacimiento ocurre la colonización intestinal del neonato (colonización, proceso por el cual un microorganismo se establece en cierto sitio corporal, esto implica adherencia a receptores en células epiteliales y multiplicación). La colonización es un proceso dinámico influido por factores como la edad gestacional del RN, el tipo de parto, la alimentación del neonato y el uso de antibioticoterapia en la madre o en el niño. El parto vaginal favorece la adquisición de microorganismos maternos de la región perianal, mientras que si el nacimiento se produce por cesárea, la exposición a estos microorganismos es mínima, y se correlaciona con la microbiota cutánea materna. Primero se colonizan la piel y las mucosas al atravesar el canal de parto, luego lo hacen las vías respiratoria, digestiva y otros nichos. Es un proceso fisiológico que lleva a la formación de la microbiota normal, la cual va a variar cualitativa y cuantitativamente a lo largo de la vida según la edad, alimentación, higiene, medicamentos, ciclo menstrual, etc.

La interacción de los microorganismos con el hombre no siempre es beneficiosa o inocua sino que también puede ser una interacción patogénica. Esto puede ser debido bien a la actividad de microorganismos intrínsecamente patógenos o a la de microorganismos patógenos oportunistas bien de la microbiota normal o de otras poblaciones bacterianas que por heridas o por descenso de las defensas inmunitarias llegan a colonizar sitios no permitidos desarrollando allí su acción patógena. El término infección hace referencia únicamente al desarrollo de un microorganismo dentro de un hospedero, mientras que el término enfermedad hace referencia también a la respuesta del hospedero al crecimiento y factores de virulencia de un microorganismo con la consecuente aparición de signos y síntomas clínicos. La infección puede adquirir varios grados:

• Colonización que es el grado mínimo de la infección. Las bacterias colonizan las mucosas y se multiplican allí sin que haya una respuesta clínica o inmune por parte del hospedero. (Por ejemplo, la presencia de estafilococos potencialmente patógenos en la cavidad nasal.)

• Infección inaparente en la que el huésped no muestra una respuesta clínica específica, pero sí se observa una respuesta inmune. Es una infección asintomática o subclínica.

• Enfermedad infecciosa en la que se producen síntomas clínicos y respuesta inmune.

La infección subclínica se suele producir cuando se produce el contagio por una número pequeño de microorganismos o estos son poco virulentos; la enfermedad se produce cuando los microorganismos son muy virulentos o su número es mayor de forma que interfieren con los mecanismos de resistencia del hospedero.

La enfermedad infecciosa y la subclínica siguen una

evolución similar. Sin embargo, en ocasiones se pueden producir infecciones crónicas el las que el huésped se convierte en un portador asintomático del patógeno (por ejemplo, el caso de la fiebre tifoidea)
La colonización del hombre es el establecimiento de la flora en el organismo y es el resultado de la adherencia y multiplicación bacteriana.

Adherencia: la bacteria se une a la célula resistiendo los mecanismos de defensa del hospedero. En este proceso intervienen adhesinas y receptores.
Adhesinas: son estructuras especializadas de las bacterias tales como pili o fimbrias de las bacterias Gram negativas, ácidos lipoteicoicos de las bacterias Gram positivas.
Receptores: son estructuras de la superficie de la célula huésped. La relación bacteria-hospedero es específica. No cualquier bacteria puede adherirse a cualquier superficie.
· Multiplicación: es cuando en un determinado sitio del organismo residen y proliferan bacterias activamente.

Clasificación
La microbiota normal puede ser clasificada en dos grupos:
Microbiota residente (autóctona o indígena): porque se encuentra regularmente en un lugar y a una edad determinada; si se destruye, se restablece rápidamente porque está bien adaptada a las condiciones ecológicas de la zona;
Microbiota transitoria: formada por microorganismos que pueden colonizar temporalmente piel y mucosas (durante horas, días o semanas) sin establecerse en forma duradera. Pueden proliferar cuando se altera la microbiota residente.
Ciertos agentes pueden "ir y venir" como habitantes esporádicos, por ejemplo: Streptococcus pneumoniae y Neisseria meningitidis determinando estado de portación.
Los microorganismos que pertenecen a la microbiota habitual pueden causar enfermedades en determinados tejidos y órganos dependiendo de las condiciones del hospedero.

Funciones
La microbiota normal se halla involucrada en múltiples procesos fisiológicos y metabólicos, de almacenamiento y conservación de energía; también en el lumen intestinal interviene en la síntesis de vitaminas (K, biotina, riboflavina, piridoxina), y participa activamente en la digestión y absorción de los alimento.
En los diferentes nichos ecológicos, contribuye a la protección contra los organismos patógenos por:
· Competición por los nutrientes (interferencia bacteriana)
· Competición por los receptores de la célula huésped (tropismo)
· Producción de bacteriocinas (son sustancias de naturaleza proteica de alta peso molecular, producidas por las bacterias, con capacidad de inhibir bacterias de la misma especie o especies relacionadas) u otros agentes antimicrobianos.
· Estimulación de inmunofactores comunes.
· Modificación de condiciones físico-químicas como: pH y potencial de óxido-reducción

Otra función extremadamente importante, recientemente estudiada, se refiere a la interacción en forma constante con el sistema inmune; hoy se sabe con certeza que la colonización microbiana intestinal es esencial para la maduración del mismo.

Importancia médica
El Microbioma y la microbiota actualmente son objeto de gran interés en el campo de la Medicina; se han realizado proyectos para entender el grado de diversidad humana genética y fisiológica, como el Proyecto Microbioma Humano. Este tipo de iniciativas está orientado ampliar los conocimientos en el área, desarrollar recursos y de esta manera poder relacionar esta microbiota con la salud y la enfermedad. Significa un cambio de paradigma importante en la patogenia de ciertas enfermedades ya que sustituye a la concepción tradicional basada en causalidad de agentes etiológicos estudiados individualmente por una enfocada en el estudio de las comunidades en el proceso Salud-Enfermedad.

El conocimiento de la microbiota por parte del médico sería, entonces relevante en:
1- El diagnóstico microbiológico: tanto para la obtención, almacenamiento y transporte de las muestras destinadas al diagnóstico etiológico, como para la interpretación de los resultados. Para realizar un correcto diagnóstico de infección a partir de muestras clínicas provenientes de sitios normalmente colonizados es imprescindible conocer la microbiota de ese lugar. El hallazgo de microorganismos reconocidos como patógenos en estos sitios es altamente sugestivo

de agente etiológico si esto se acompaña de un cuadro clínico compatible, ejemplo: aislamiento de Streptococcus pyogenes a partir de un hisopado faríngeo de un paciente con angina eritematopultácea. Mientras que la recuperación de cualquier microorganismo proveniente de muestras de sitios estériles se considera agente etiológico de infección.

2- El desarrollo de infecciones endógenas: las infecciones endógenas provienen de la microbiota normal propia del paciente. Un clásico ejemplo de estas infecciones puede ser las infecciones hospitalarias provocadas a partir de la manipulación (instrumentación) de sitios normalmente colonizados: bacteriemia a punto de partida de catéteres, cistitis por colocación de sonda vesical. Las bacterias anaerobias, residentes habituales del intestino grueso, son completamente inocuas en esta localización; pero no ocurre esto cuando son introducidas a la cavidad peritoneal o tejidos pélvicos. Es frecuente que situaciones de esta naturaleza se generen también cuando existe una alteración en la calidad o cantidad de los microorganismos que integran el microbioma en un sitio dado: disbiosis (abarca no sólo las bacterias, caso en el cual se habla de disbacteriosis), esto sucede con frecuencia después de tratamientos con antimicrobianos de amplio espectro.

No es fácil establecer hasta cuando un microorganismo que forma parte de la microbiota habitual deja de ser un conviviente para transformarse en un "patógeno oportunista" o un "patógeno potencial". Existen, en cambio, microorganismos "patógenos verdaderos", que sólo se aislan de procesos infecciosos y que nunca fueron aislados formando parte de la flora habitual como: Neisseria gonorrhoeae, Salmonella spp., Shigella spp., Brucella spp.

Composición

Existe un gran número y variedad de especies microbianas que configuran complejos fenotipos dentro del microbioma. Estos fenotipos resultan de complejas interacciones entre bacterias, virus y eucariotas, así como también sus interacciones con el hospedador o con ciertas drogas (como los antibióticos).

Debido a que la mayoría de los microorganismos integrantes del Microbioma humano no son cultivables, para abordar su estudio actualmente se utilizan principalmente técnicas como la secuenciación del gen 16s rRNA. De acuerdo a esto, se sabe que existen cuatro phylos: Actinobacila, Bacteroidetes, Firmicutes y Proteobacteria, representantes de casi todos los sitios del organismo. Los estudios metagenómicos han demostrado que las comunidades bacterianas en un sitio dado se asemejan entre sí más que las de los diferentes lugares del cuerpo. Además existe variabilidad entre individuos en cada uno de ellos.

El Proyecto Microbioma Humano se originó para estudiar la distribución y constitución de los diferentes microorganismos. En los últimos años se han identificado nuevos géneros y especies, y esto aún continúa en revisión.

Nichos ecológicos normales del cuerpo humano

En el cuerpo humano la composición de la microbiota varía según la zona topográfica que se considera.

Tracto Gastrointestinal

Boca y faringe

La colonización de la boca comienza el primer día de vida. Al principio los estreptococos predominan pero al final del primer año la microbiota del lactante es tan compleja como la del adulto.

La microbiota oral está constituida por varios nichos ecológicos que coexisten y son: a) saliva: predominan Streptococcus del grupo viridans (S. salivarius y S. mitis); b) superficie dentaria: formando parte de la placa dental. También se encuentran Streptococcus del grupo viridans (S. mutans, S. salivarius y S. sanguis) responsables también de la formación de caries por fermentación de azúcares de la dieta. c) Surco gingival: debido a que la concentración de oxígeno es menor hay predominio de anaerobios.

Tanto en la faringe como en la boca existen" portadores" de: S. pyogenes (5-10%), S. pneumoniae (20-40%), Haemophilus influenzae (40%), Neisseria meningitidis.

AEROBIOS	ANAEROBIOS
Streptococcus spp.	Fusobacterium spp.
Neisseria spp.	Treponema spp.
Haemophilus spp.	Veillonella spp.
Borrelia spp.	Lactobacillus spp.
Candida spp.	Bacteroides spp.
Mycoplasma spp.	Actinomyces spp.
Corynebacterium spp.	Propionibacterium spp.
Micrococcus spp.	

La relación aerobios/anaerobios varía de acuerdo a la localización dentro de la cavidad bucal:
Lengua: 1:5 Dientes: 1:1

Surco gingival: 1:100 -1000.
Esófago y Estómago
Son órganos de paso que albergan flora transitoria proveniente de los alimentos. En el estómago se encuentran microorganismos que toleran la acidez como Lactobacillus spp. y Helicobacter pylori. Presentan colonización escasa (102 bacterias). Relación aerobios/anaerobios 1:10.

Intestino delgado
Contiene menos de 10^3 microorganismos por ml. Intestino grueso
Como mencionamos anteriormente, la microbiota del intestino grueso se debería asumir como una parte más de este sitio anatómico corporal, comportándose como factor esencial para el desarrollo del sistema inmune y participando en numerosos procesos metabólicos del mismo. Actualmente existen numerosas líneas de investigación destinadas a relacionar su rol en el desarrollo de ciertas enfermedades.
En general, la microbiota del colon contiene principalmente Bacteroidetes y Firmicutes. Esta microbiota de la mayoría de los individuos se puede clasificar en tres enterotipos, basados en los géneros predominantes, que varían según el tipo de dieta. Las dietas con alto contenido en grasas animales se asocian con mayor presencia de Bacteroides spp , mientras que si la dieta es rica en carbohidratos, predomina Prevotella spp
En general, en el colon la concentración de microorganismos es elevada, alcanzando 1011 bacterias por gramo de heces. La relación aerobios/anaerobios es de 1:1000, se desprende de esto que predominan los anaerobios mientras que de los anaerobios facultativos los que predominan son enterobacterias, Enterococcus spp.

AEROBIOS	ANAEROBIOS
Enterococcus spp.	Bacteroides spp.
Staphylococcus spp.	Fusobacterium spp.
Streptococcus spp.	Actinomyces spp.
Lactobacillus spp.	Clostridium spp.
Corynebacterium spp.	Peptococcus spp.
Flia. Enterobacteriaceae	Peptostreptococcus spp.
Pseudomonas spp.	Eubacterium spp.
Mycoplasma spp.	Veillonella spp.
Candida spp.	
Mycobacterium spp.	
Neisseria spp.	
Acinetobacter spp.	

Piel
En la piel se puede hallar microbiota residente o transitoria por su continua exposición a factores del ambiente. Staphylococcus spp., Corynebacterium spp. y Propionibacterium acnes son ejemplos de microorganismos que se encuentran en la microbiota residente.
La mayoría de las especies bacterianas están en la superficie de la piel y hay un 20% que residen en las capas más profundas (glándulas sebáceas, folículos pilosos) siendo ésta la responsable de restablecer la flora luego de la antisepsia.
En las áreas húmedas (ingle, axilas, periné) predominan microorganismos tales como Pseudomonas spp. y enterobacterias.

AEROBIOS	ANAEROBIOS
Staphylococcus spp.	Propionibacterium acnes.
Streptococcus spp.	Clostridium spp.
Corynebacterium spp.	Peptococcus spp.
Micrococcus spp.	Peptostreptococcus spp.
Flia. Enterobactericeae	

Conducto auditivo externo
Su microbiota es similar a la de la piel.

Conjuntiva
En ella también encontramos flora, son ejemplos de microorganismos: Corynebacterium spp., Staphylococcus epidermidis, Streptococcus spp., Haemophilus spp. y neisserias saprófitas.

Vías Aéreas Superiores
Nariz
Hay portadores sanos de Staphylococcus aureus en la parte anterior de las fosas nasales.

AEROBIOS	ANAEROBIOS
Staphylococcus spp.	Peptococcus spp.
Streptococcus spp.	Peptostreptococcus spp.
Corynebacterium spp.	Fusobacterium spp.
Neisseria spp.	Bacteroides spp.
Haemophilus spp.	

Laringe
Por lo general es estéril o con microbiota transitoria.

Aparato Urinario
La uretra femenina y sólo el tercio anterior de la uretra masculina presentan microbiota normal.

AEROBIOS	ANAEROBIOS
Corynebacterium spp.	Bacteroides spp.
Flia. Enterobacteriaceae	Peptostreptococcus spp.
Staphylococcus spp.	Clostridium spp.
Streptococcus spp.	Lactobacillus spp.
Mycoplasma spp.	Propionibacterium spp.
Neisserias saprófitas	

Aparato genital
Del aparato genital masculino solo la uretra anterior está colonizada, del femenino la uretra, la vagina y primer tercio del endocérvix.

Vagina
Es un ecosistema sometido a constantes modificaciones de índole hormonal. A partir de la pubertad por influencias de los estrógenos predominan Lactobacillus spp., los que se mantienen hasta la menopausia.
La relación aerobios/anaerobios es de 1:10. Existe portación de varios microorganismos tales como Gardnerella vaginalis (15%), Candida spp. (30%), Ureaplasma urealyticum (17%) y Streptococcus agalactiae.

AEROBIOS	ANAEROBIOS
Lactobacillus spp.	Propionibacterium spp.
Corynebacterium spp.	Eubacterium spp.
Streptococcus spp.	Clostridium spp.
Staphylococcus spp.	Bacteroides spp.
Flia. Enterobacteriaceae	Fusobacterium spp.
Pseudomonas spp.	Peptostreptococcus spp.
Mycoplasma spp.	Peptococcus spp.
Gardnerella spp.	
Neisseria spp. (saprófitas)	
Candida spp.	

Zonas y Líquidos Orgánicos Normalmente Estériles
· Líquidos orgánicos sin vías de comunicación con el exterior (LCR, líquido pleural,
líquido peritonial, líquido sinovial o articular, sangre, humor vítreo, humor acuoso).
· Orina de tracto urinario superior y vejiga.
· Oído medio y senos paranasales.
· Tráquea, bronquios y pulmones.
· Uretra posterior, vejiga, uréteres y riñones.
· Próstata, testículos y vesículas seminales.
· Dos tercios superiores del canal cervical, útero, trompas y ovarios.

En un mundo cargado de microorganismos es razonable llegar a la conclusión de que la microbiota está adaptada más para beneficiar que para dañar, siempre y cuando se mantengan en equilibrio las distintas variables que interrelacionan dentro de cada nicho ecológico en el organismo humano.

Bibliografía
• Clemente J., Ursell L., Wegener Parfrey L., Knight R. (2012). The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. Cell 148: 1258-1270.
• Iwasaki A., Foxman E. (2011=. Genome- virome interactions: examining the role of common viral infections in complez disease. Nature, Vol 9: 254-264.
• Turnbaugh P., Ley R., Hamady M., Fraser-Ligget C., Knight R., Gordon J. (2007). The human Microbiome Proyect. Nature vol 449: 804-810.
• O Hara A., Shanahan F. (2006). The gut flora as a forgotten organ. EMBO Reports, Vol 7: 688-693.
• Hernández D., Gómez Cabeza J., Sánchez Castañeda N. (2014). La microbiota intestinal en el desarrollo del sistema inmune del recién nacido. Revista Cubana de Pediatría 86 (4): 502-513.

Capítulo 8
Medios de cultivo

Antecedentes históricos

Robert Koch, el padre de los medios de cultivo bacteriológicos

Los medios de cultivo empleados en el comienzo de la era microbiológica fueron líquidos, los llamados "caldos" porque en su gran mayoría eran elaborados con carne, como todavía hoy se hace para preparar una sopa en la alimentación humana.

El éxito de Koch en Bacteriología está asentado en la técnica del empleo de los medios sólidos y transparentes para el cultivo de bacterias.

Bartolomeo Bizio publicó en 1832 la existencia de "manchas de sangre" en el pan y en la hostia. Las colonias de bacterias aparecieron a la vera de una Iglesia como "manchas de sangre" (fotobacterias) creyéndose entonces que era un milagro. Así cultivó y subcultivó el agente de las "manchas de sangre" que resultó ser la bacteria conocida hoy como Serratia marcescens (antes llamado Bacillus prodigiosus, en alusión a su interpretación milagrosa).

Schroeter llevó a cabo en 1872, un trabajo similar con bacterias que producen pigmentos (cromógenas) haciéndolas desarrollar en varios sustratos sólidos como la papa, albúmina de huevo coagulada, pasta de almidón y la superficie de la carne. Esto resultó exitoso para bacterias apatógenas cromogénicas, el método no resultó cuando se pretendió cultivar bacterias patógenas sin pigmento (escotobacterias). Con todo, R.

Koch observó el desarrollo de microorganismos patógenos en la superficie de la papa, basado en los trabajos de Schroeter, pero la opacidad del sustrato (papa) no permitía la adecuada inspección del desarrollo de las colonias ("puntitos"). Posteriormente describe caldos que permiten el desarrollo de bacterias patógenas, así como el efecto de añadir gelatina a estos caldos. Después de incubar el caldo con gelatina, las colonias

separadas de los microorganismos fueron subcultivadas en otras placas de gelatina.

Esta técnica la empleó para aislar microorganismos presentes en el agua, aire, suelo, alimentos, lo que comunicó ampliamente en 1881 en el Congreso Médico Internacional en Londres; en el que también asistieron Louis Pasteur y Joseph Lister. Koch, Pasteur y Lister son considerados los pilares de la Bacteriología moderna. La técnica del cultivo con gelatina tenía dos desventajas: a) cambiaba de estado sólido a líquido alrededor delos 25°C, por lo que no podía incubarse a 35-37°C, temperatura óptima para el crecimiento bacteriano; y b) era hidrolizada por la gelatinasa, una enzima presente en numerosas bacterias proteolíticas. En aquel entonces, tratando R. Koch de resolver este problema es invitado a una cena por la esposa de Hesse, un colaborador. Al final de la misma ella le invita con un postre elaborado con una substancia llamada agar, postre que impactó a Koch por la consistencia que tenía y a diferencia del clásico postre de gelatina no se licuaba a 35-37ºC. R. Koch experimenta luego con este nuevo producto, derivado de algas marinas rojas, y queda impresionado de su utilidad para elaborar medios de cultivo sólidos.

ROBERT KOCH

¿Cuál es la importancia de los medios de cultivo sólidos?

Es de gran importancia destacar que cuando sembramos una sola bacteria en un medio líquido nutritivo, al día siguiente tenemos millones de bacterias por mililitro de caldo sembrado, dando turbidez al medio. Por el contrario, Koch al emplear medios sólidos crea la Bacteriología cuantitativa que permitió saber cuán-tas bacterias había en el material original, tan utilizado en la Microbiología Alimentaria y en la Microbiología Humana. El éxito de Koch se debe a que en un medio sólido, una bacteria forma una colonia que se visualiza como un "puntito". De tal modo que si tenemos 300 colonias (300 "puntitos") visibles a simple vista en el medio de cultivo sólido, significa que inoculamos 300 bacterias. La colonia representa un clon genéticamente homogéneo pues deriva de una sola célula progenitora.

La siembra en una placa de medio de cultivo con agar estéril constituye una práctica de rutina en el diagnóstico bacteriológico.

Introducción

La célula bacteriana necesita una serie de elementos primordiales para su desarrollo y supervivencia que podríamos llamar al igual que para la célula eucariota: energéticos (hidratos de carbono), elementales (minerales-H2O) y esenciales (aminoácidos, proteínas, vitaminas).

Estos elementos los obtiene a partir de los llamados medios de cultivos artificiales, que son preparados con sustancias nutritivas que provienen de la digestión de proteínas (pepsina, tripsina) con enzimas quedando peptonas–aminoácidos; y con factores de crecimiento mediante la adición de sangre, suero, otros líquidos orgánicos, extracto de levadura.

Definiciones

Medio de cultivo: es el sustrato en el que crecen y se multiplican los microorganismos en el laboratorio.

Cultivo: es la técnica que permite aislar las diferentes especies bacterianas para luego proceder a su identificación y llevar a cabo una serie de estudios complementarios (por ejemplo pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos).

Clasificación

Por su consistencia:

· Líquidos: llamados caldos, contienen los nutrientes en solución tamponada. Ejemplo: caldo nutritivo-caldo tioglicolato.
· Sólidos: se preparan añadiendo agar-agar (sustancia inerte polisacárido de algas marinas). Este agar-agar sirve de soporte. Ejemplo: agar nutritivo, agar-triptona soya.
· Semi-sólidos: La concentración de agar-agar es baja. Ejemplo: medios de transporte (Stuart-Cary Blair), medio de movilidad (para determinar si la bacteria es móvil o inmóvil).
· Bifásicos: son los que tienen una fase líquida y una fase sólida. Se utilizan para la recuperación de microorganismos exigentes. Ejemplo: medio de Ruiz Castañeda para Brucella spp.

Por su utilidad:

- Medios comunes: son utilizados para bacterias con pocas exigencias: agar nutritivo - caldo nutritivo.

- Medios enriquecidos: son aquellos a los que se les adicionan sustancias que los hacen más ricos en elementos nutritivos permitiendo el crecimiento de bacterias más exigentes que no crecen en medios comunes. Ejemplo: agar sangre-agar chocolate.

- Medios selectivos: son medios sólidos que contienen sustancias inhibidoras de las bacterias que forman parte de la flora normal permitiendo el desarrollo sólo de las bacterias que nos interesa aislar. La selectividad de dichos medios se debe al agregado de colorantes, sales en altas concentraciones o antimicrobianos: Agar de Thayer-Martin (para N. gonorroheae con antimicrobianos), agar SS para Salmonella y Shigella (con sales biliares y citrato).

- Medios de enriquecimiento: son medios líquidos que favorecen el crecimiento de ciertas bacterias presentes en baja densidad en una muestra cínica que inhiben transitoriamente otras presentes en la misma que pueden ser no patógenas. Se utilizan frecuentemente para la siembra de materia fecal, manteniendo el desarrollo de bacterias entéricas en fase de retardo (inhibiendo) y favoreciendo sólo la multiplica-ción de bacterias que son enteropatógenas (Salmonella spp., Shigella spp.). Ejemplo: caldo selenito F.

- Medio diferencial: son medios que contienen sustratos sobre los que actúan determinados microorganismos demostrando algunas de sus propiedades metabólicas. Se utilizan para la identificación bacteriana. Ejemplo: medio de Levine o EMB (eosina-azul de metileno): este medio contiene lactosa permitiendo diferenciar las bacterias que la fermentan de las que no la fermentan. Las colonias que lo hacen se ven rojas y las que no, transparentes o rosas.

- Medios de transporte: son los que permiten preservar la viabilidad del microorga-nismo hasta que la muestra sea procesada en el laboratorio. Son medios inertes o sea que no tienen factores de crecimiento por lo que las bacterias no se multiplican. Se utilizan cuando el tiempo entre la recolección y el cultivo de la muestra supera las 2 horas o cuando el microorganismo a investigar es muy lábil. Ejemplos: Cary Blair - Stuart-medios con atmósfera anaeróbica.

- Medios especiales: son los que se utilizan para aquellas bacterias que tienen reque-rimientos nutricionales y metabólicos especiales para su desarrollo. Ejemplos: Lowenstein-Jensen (Mycobacterium tuberculosis) - Medio de Löeffler (Corynebacterium diphtheriae).

- Medios de cultivo cromogénicos

Son aquellos que traen incorporada una o varias sustancias llamadas Cromóforos (grupo químico formador de color), que se adhieren al sustrato objetivo, y la hidrólisis del mismo produce un color específico. En la actualidad existe una gran variedad de medios cromogénicos disponibles comercialmente para la detección de muchos microorganismos en muestras clínicas, pero también de agua y alimentos (por ejemplo Listeriaspp, Salmonellaspp, Bacilluscereus, Streptococcusagalactiae, Candidaspp, etc).

Las ventajas que caracterizan a estos medios sobre los convencionales radican en la facilidad para utilizarlos e interpretarlos, la rapidez para obtener resultados y reducciónde l número de pruebas confirmatorias requeridas. Los medios cromogénicos son ampliamente utilizados en la actualidad, tanto con fines diagnósticos o epidemiológicos (estudios de colonización).

Aislamiento viral en cultivos celulares

La imposibilidad del aislamiento de un agente viral, fue en los comienzos de la virología una barrera para el avance científico. En 1902 Walter Reed describió el agente causal de la fiebre amarilla recurriendo a la utilización de voluntarios humanos para cumplir los postulados de Koch: reprodujo la enfermedad en individuos mediante la inyección de un filtrado libre de células provenientes de la sangre de un paciente enfermo. Posteriormente, Enders y sus colegas desarrollaron métodos para el aislamiento de virus en cultivos celulares valiéndose de los antibióticos penicilina y estreptomicina, por entonces disponibles, para el control de la contaminación bacteriana. En 1949 demostraron que el virus Polio podía cultivarse "in vitro", en un cultivo primario de células obte-nidas de riñón de mono. Un cultivo primario de células se obtiene extrayendo, en este caso, el riñón de un mono, desmenuzando las uniones intercelulares y colocando a las células en un medio de cultivo líquido adecuado. Los cultivos primarios se caracterizan por estar constituidos por células normales que luego de un determinado lapso de tiempo disparan sus mecanismos de muerte celular programada. En 1952 Gay y sus cola-boradores establecieron la línea celular continua HeLa derivada de un carcinoma de cuello uterino de la Sra. Henrietta Lachs, línea que aún en la actualidad es muy utili-zada. Las líneas continuas se caracterizan por células de origen tumoral o normales inmortalizadas que se reproducen indefinidamente "in vitro". Al año siguiente Sherer y colaboradores lograron la multiplicación del virus polio en esta línea celular. Fue Younger en 1954 que publicó una técnica para el crecimiento de células adheridas a un soporte (en monocapa), lo que hizo posible el reconocimiento de la infección vírica a partir de la observación del efecto citopático.

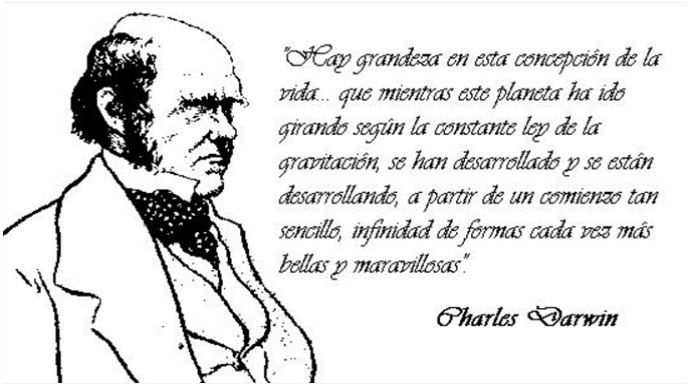
El efecto citopático es el cambio celular observable en el microscopio óptico producido en las células infectadas. Si el efecto citopático es lo suficientemente característico, el observador podrá dar un diagnóstico presuntivo del agente que está replicando. Por ejemplo, el observar células gigantes multinucleadas (sincicio) en un cultivo contínuo de células de riñón de mono (VERO) inoculadas con un aspirado nasofaríngeo de un niño, posibilitan una buena orientación del agente problema hacia el Virus Respiratorio Sincicial. Sin embargo la mayoría de los virus no producen cambios celulares característicos. En cualquier situación, el agente infeccioso presente en el material clínico inoculado, se amplificará, y ahora se dispondrá del agente infeccioso "aislado" y "en cantidad aumentada".

Bibliografia

• Díaz R., Gamazo C., López-Goñi I. Manual Práctico de Microbiología. 1999. 2ª Edición Ed. Masson.

• Baron, E. et al. Diagnostic microbiology. 1994. 9.ed. Missouri: Mosby, Madrid, España.

Capítulo 9
Genética bacteriana



Introducción

Las bacterias son microorganismos con una extraordinaria capacidad de adaptación a diferentes condiciones ambientales. Para comprender la esencia de esta capacidad es importante conocer las bases de su genética, es decir cómo esta organizada la información genética, cómo realizan y regulan su expresión y qué mecanismos de variación génica poseen.

Entre otras, la capacidad infecciosa de las bacterias patógenas radica en que poseen la información gética necesaria para colonizar los tejidos de un huésped, invadirlos y/o producir sustancias tóxicas que en definitiva causarán la enfermedad.

Por otro lado, el conocimiento del modo de funcionamiento genético de las bacterias, sumado al hecho de que estos microorganismos son de relativo fácil manejo en el laboratorio, que en general tienen un rápido crecimiento, ha llevado a que podamos utilizarlos para sintetizar productos útiles a la medicina, tanto para el diagnóstico como para la prevención y tratamiento de varias enfermedades.

Estas posibilidades se han visto incrementadas a partir del desarrollo de la ingeniería genética y la disponibilidad de técnicas de biología molecular.

Transferencia de factores de resistencia

Mecanismos

Los mecanismos de recombinación proveen a las bacterias de una serie de alternativas que serán luego seleccionadas por las condiciones del medio.

Existen diferentes mecanismos de transferencia de genes en bacterias, proveedores de la variabilidad genética; tales como transformación, transducción y conjugación.

En las bacterias hay diferentes mecanismos para transferir el material genético de una célula (célula donante) a una segunda célula (célula receptora). Todos estos funcionan unidireccionalmente.

Estos son:

Transformación

Es el ingreso de moléculas de ADN exógeno y desnudo a una célula bacteriana. No requiere contacto célula a célula. Este ADN exógeno es asimilado al cromosoma bacteriano a través de eventos de recombinación. Este proceso es sensible a las ADNasas. Es un proceso activo que requiere energía y la lisis de la célula donante.

Sólo algunas células bacterianas poseen el factor de competencia, que es el estado fisiológico que permite captar ADN del medio externo. Este estado aparece al final de la fase logarítmica de crecimiento bacteriano. El proceso se caracteriza por ser complejo e influenciado por una serie de condiciones como temperatura, pH, nutrientes del medio, inóculo bacteriano.

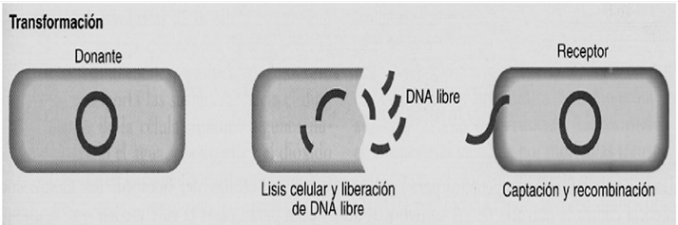
La transformación tiene diferentes fases:

1) Unión reversible de la doble cadena de ADN a moléculas receptoras en la super-ficie celular.

2) El ingreso del ADN a la célula huésped.

3) Conversión de la doble cadena a simple cadena por la degradación de nucleótidos.

4) Integración de todo o parte del ADN transferido al ADN de la célula bacteriana. 5) Expresión fenotípica del gen en la célula transformada.



Transducción

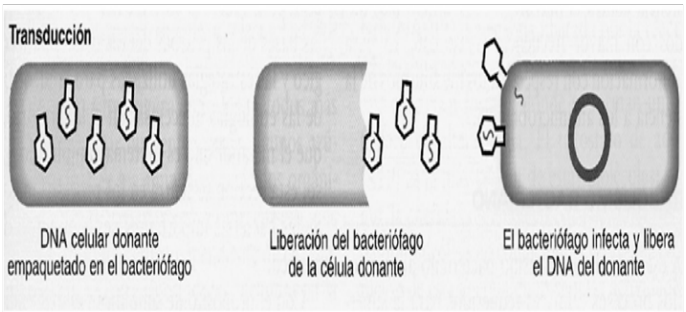
Los genes bacterianos son llevados de una célula donante a otra receptora mediante un bacteriófago, que es un virus parásito de la célula bacteriana. No requiere contacto célula a célula. El mecanismo no es sensible a las ADNasas.

Según las características del ciclo de replicación los bacteriófagos pueden ser clasificados en:

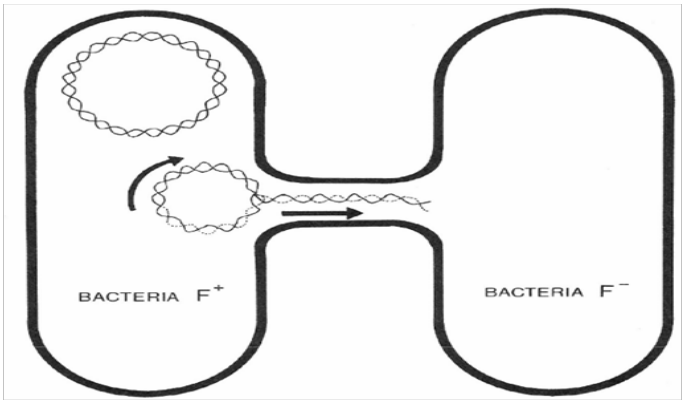
• Bacteriófagos virulentos: ciclos líticos con lisis celular y liberación de partículas virales.

• Bacteriófagos temperados: ciclos lisogénicos sin lisis celular con integración del ADN viral al de la célula huésped.

Los fagos aumentan el intercambio de información genética entre las células bacteria-nas o pueden dotar a éstas de nuevas propiedades que aumenten su virulencia (ciclos lisogénicos).
Algunas toxinas muy potentes son codificadas por bacteriófagos: toxinas de C. diptheriae, toxinas de S. pyogenes, enterotoxinas de S. aureus.



Conjugación
La conjugación bacteriana es proceso de transferencia génetica en que el ADN tranferido se encuentra codificado en un plámido (ADN extracromosómico). El plásmido es transferido de la célula dadora (macho) a través de su pili sexual a la célula receptora (hembra). Requiere el contacto célula a célula. El mecanismo no es sensible a las ADNasas.
Este mecanismo es bien conocido para el plásmido F denominado factor de fertilidad o factor F presente en la célula dadora. Este factor codifica la síntesis del pilu sexual. El factor F puede existir como elemento extracromosómico de replicación autónoma (célu-las F +) o como parte integrante del cromosoma bacteriano.



Conjugación. (Pumarola A. y col. 1987. 2ª Ed. Panamericana)

Elementos genéticos extracromosómicos y resistencia a drogas
a) Elementos genéticos transponibles o transposones: Muchos genes ocupan una posición fija en el cromosoma. Otros sin embargo cambian posición. Estas secuencias móviles se denominan elementos genéticos transponibles. Existen en procariotas y en eucariotas. Los elementos genéticos transponibles son:
1) Las secuencias de inserción (elementos IS)
2) Los transposones (Tn)
Los elementos IS, son segmentos de ADN relativamente pequeños, de aproximadamente 1 a 2 Kb que contiene la información genética mínima, necesaria para la transposición. Poseen secuencias específicas en ambos extremos del fragmento, que consisten en repeticiones invertidas una respecto a la otra. Estas secuencias, son reconocidas específicamente por enzimas codificadas dentro del mismo elemento IS, denominadas transposasas responsables de la integración del elemento en su sitio blanco del genoma.
Los Tn son segmentos de ADN muchos más largos que las IS, que además de portar la información necesaria para la transposición, contienen genes extra, que pueden codificar para muy distintas propiedades fenotípicas.
Pueden contener genes marcadores de resistencia, entre las más importantes desde el punto de vista clínico, la resistencia a antimicrobianos como ser el caso de la resistencia de alto nivel a la gentamicina encontrada en algunas cepas de Enterococcus sp.
Algunos plásmidos, poseen uno o más Tn que portan determinantes de resistencia a antibióticos, y la capacidad de estos elementos para saltar de un plásmido a otro, proporciona a las bacterias una gran flexibilidad para desarrollar resistencia, debido a que estos plásmidos son en general conjugativos, por lo que pueden transferirse entre distintas bacterias.
La inserción de un elemento transponible, puede producir una variedad de efectos sobre la expresión de la información génica, como impedir la funcionalidad de un gen, o activar la expresión de otro.
b) Plásmidos:
Los plásmidos son elementos genéticos auxiliares (ADN extracromosómico), su replicación es independientes del cromosoma bacteriano. Se los conoce también como replicones.
Contienen información genética adicional responsable de la aparición de nuevas propiedades fenotípicas en una célula bacteriana, por ejemplo:
a - factores de virulencia bacteriana
b - enzimas de vías metabólicas
c - resistencia a antibacterianos
a- Los plásmidos de virulencia codifican varias propiedades de determinadas bacterias: síntesis de toxinas como la del tétanos, carbunclo, enterotoxinas;

factores de adherencia de las bacterias a las células del intestino delgado.
b - Otra clase de información codificada por plásmidos se relaciona con actividad metabólica de las bacterias y algunas de estas propiedades desempeñan papeles ecológicos de importancia: plásmidos de Pseudomonas spp. en la detoxificación de productos químicos orgánicos, fijación de nitrógeno por especies de Rhizobium.
c - Los plásmidos de resistencia a las drogas (plásmidos R) transportan genes de resis-tencia a los antibióticos y con frecuencia varios genes de resistencia son transportados por un único plásmido R. Estos tipos de plásmidos son anteriores a la era moderna de la terapéutica antimicrobiana.
Algunos plásmidos R son el resultado de la selección por antibióticos naturales, los que están muy distribuidos en el medio. La difusión en el empleo de antibióticos incrementó la prevalencia y la diversidad de los plásmidos R. Estos tienen gran plasticidad y evo-lucionan con rapidez en presencia de presión selectiva de la terapia antimicrobiana. Los genes de resistencia del plásmido R están agrupados en una región del plásmido denominada determinante r. Este determinante r es un complejo de transposones o elementos genéticos móviles.
Los otros genes del plásmido R implicados en la transferencia por conjugación están ubicados en una región denominada factor de transferencia de resistencia (ftr).
El conocimiento de los plásmidos así como de las enzimas de restricción contribuyó al estudio y aplicación de las técnicas de ADN recombinante

APORTES DE LA BIOLOGIA MOLECULAR Y LA GENETICA BACTERIANA A LA MEDICINA

Una de las contribuciones más grandes de la ingeniería genética de bacterias, es su uso para el desarrollo de vectores o vehículos para el clonado de cualquier secuencia de ADN. Los vectores más ampliamente utilizados son los plásmidos bacterianos.
Clonar implica introducir un fragmento de ADN en un vector. Los vectores de clonación, deben permitir la inserción de un fragmento de ADN extraño y ser capaces de replicarse normalmente dentro de la bacteria. Como vimos, los plásmidos tienen la capacidad de autoreplicarse y son elementos génicos factibles de ser transferidos entre bacterias e introducidos en una cepa deseada, por lo que se constituyen en buenos vectores de clonación. Actualmente existen diferentes tipos de vectores, algunos plasmídicos (como el pBR322 o el pUC) y otros vectores virales (como el bacteriófago lambda) o los más modernos llamados cósmidos que combinan algunas de las ventajas de los plámidos con las de los fagos.
Para clonar un gen cualquiera en un plásmido, es necesario en primer lugar cortar el ADN plasmídico y el ADN del cual procede el gen a clonar, para luego ligarlos de la manera deseada.
Para esto, existen unas valiosas herramientas de la ingeniería genética, que son las enzimas de restricción. Muchas bacterias, sintetizan este tipo de enzimas, que son capaces de cortar hebras de ADN extrañas a la propia bacteria, en secuencias nucleotídicas específicas. Por ejemplo, una cepa determinada de E. coli, produce una enzima denominada EcoRI que reconoce la secuencia GAATTC y la corta.
Así, luego que EcoRI ha cortado, quedarán bases sin aparear, que estarán disponibles para aparearse con otro fragmento de ADN que posea las bases complementarias. Si cortamos 2 fragmentos de ADN con esta enzima, y mezclamos los productos de esa reacción, se obtendrá un producto recombinante, combinación de los 2 ADN originales.
Estas enzimas, que han sido hace tiempo purificadas y hoy se producen comercialmente, son utilizadas para clonar genes en por ejemplo un plásmido bacteriano.
De esta manera, es posible por estos métodos incorporar en un plásmido bacteriano un gen eucariota que codifique para una proteína determinada que nos interese producir en grandes cantidades, siempre que se conozca su secuencia nucleotídica y se disponga de enzimas de restricción que sean capaces de cortar específicamente el fragmento de ADN que contiene el gen. Una vez obtenido el fragmento de ADN de interés y cortado el plásmido a ser utilizado como vector con las mismas enzimas de restricción, estaremos en condiciones de ligar ambos fragmentos de ADN, valiéndonos de las propiedades de complementariedad de bases del ADN, construyendo lo que se llama un plásmido recombinante. Este plásmido, podrá ser introducido por transformación en una cepa bacteriana apropiada y se podrá producir la proteína de interés en un cultivo bacteriano de E. coli, purificándola luego a partir del cultivo.
Utilizando estos procedimientos de clonado y expresión de genes, actualmente se producen muchas

proteínas que son utilizadas para el tratamiento de diversas enfermedades humanas, como por ejemplo la diabetes, al producir la hormona humana insulina u otras como la hormona de crecimiento o el interferón, en bacterias recombinantes obteniendo cantidades suficientes como para su aislamiento y uso terapéutico.
Por otra parte, la disponibilidad de antibióticos naturales para el tratamiento de las infecciones bacterianas, no es infinita, por lo que otra importante área de investigación, se centra en la aplicación de la ingeniería genética a la creación de nuevos fármacos antimicrobianos. Por manipulación genética, se intenta producir mutaciones específicas en los genes encargados de la codificación de proteínas con efecto antibiótico o producir moléculas de antibióticos híbridos, logrados por técnicas de ADN recombinante.
Otra importante aplicación de la biología molecular a la Medicina, es la producción de vacunas recombinantes contra infecciones víricas, parasitarias o bacterianas. Este procedimiento, se basa en la expresión en bacterias de genes de patógenos que codifican por ejemplo antígenos de superficie del virus o del parásito contra el que se desea vacunar, que sean capaces de actuar como inmunógenos adecuados en la vacunación. Así, clonando los genes apropiados en los microorganismos adecuados, podrán producirse grandes cantidades del antígeno puro. Este método, proporciona la ventaja de que se evita trabajar con microorganismos patógenos. El desarrollo de la vacuna contra la hepatitis B representa el primer éxito de las vacunas recombinantes.
Esta vacuna, es producida en una levadura, que ha sido transformada previamente con un vector recombinante que contiene el gen del virus clonado, encargado de codificar para una proteína de superficie inmunogénica.
Estos métodos, pueden emplearse también para la producción de vacunas vivas, es decir vacunas a ser administradas con virus o bacterias vivas, que han sido manipuladas genéticamente para perder su virulencia pero que mantienen intactas sus propiedades inmunogénicas. A su vez, estos microorganismos, denominados atenuados, pueden utilizarse como vectores de genes de otros gérmenes patógenos, y lograr producir una vacuna que inmunice contra más de una enfermedad infecciosa a la vez. Estos procedimientos, son motivo de investigación en los laboratorios de desarrollo de vacunas en todo el mundo.

BIOTECNOLOGIA APLICADA AL DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Otra utilidad de la producción de antígenos a escala industrial en bacterias, para la realización de pruebas diagnósticas que detecten anticuerpos específicos contra antígenos microbianos en el suero de pacientes. En estos casos, interesa clonar en una bacteria de rápido crecimiento como E. coli, el gen que codifica para un antígeno determinado del microorganismo contra el cual se desea detectar la respuesta inmune del paciente. De esta manera se producirá el antígeno proteico en cantidad suficiente, como para utilizarlo como "captura" de anticuerpos en la técnica elegida para la prueba diagnóstica, ya sea esta ELISA, Inmunofluorescencia, aglutinación de partículas de látex u otras. Un ejemplo, es el reciente desarrollo de una técnica de ELISA para la detección de anticuerpos dirigidos contra el antígeno del core del virus de hepatitis B, habiéndose este antígeno clonado y expresado en E. coli.
Las bacterias patógenas, se comportan como tales porque poseen ciertos genes, portados tanto por su cromosoma como en plásmidos, que le confieren la capacidad de expresar determinadas características fenotípicas denominadas factores de virulencia o determinantes de patogenicidad. El estudio detallado de la genética bacteriana, ha permitido identificar varios de estos genes y hoy día somos capaces no sólo de identificar a una bacteria como patógena cuando la aislamos produciendo enfermedad, sino también, cuando encontramos en ella los genes responsables de la expresión de determinantes de patogenicidad. Esto es especialmente importante, en los casos en que no alcanza con identificar a nivel de especie una cepa bacteriana aislada de una muestra patológica, para poder afirmar que esa bacteria es el agente causal del proceso infeccioso. Este es el caso de las enfermedades diarreicas causadas por ciertas cepas de E. coli. Como sabemos, E. coli forma parte de la microbiota normal del tracto intestinal del hombre, y por supuesto esas bacterias no actúan como patógenos en el intestino. Sin embargo, algunas cepas especiales de la misma especie, cuando alcanzan a colonizar el tracto gastrointestinal, a través de la ingesta de alimentos o agua contaminados, son capaces de multiplicarse a ese nivel y causar un proceso infeccioso que se manifiesta con un cuadro diarreico. Estas cepas productoras de diarrea, difieren en su carga genética de las

pertenecientes a la flora normal, en que poseen genes que codifican para factores de virulencia, por ejemplo pueden ser capaces de producir toxinas cuyo blanco de acción es el enterocito, o producir determinadas proteínas de membrana externa, que la capacitan para adherirse a la mucosa intestinal. Entonces, a la hora de establecer un diagnóstico clínico microbiológico en un cuadro diarreico, por ejemplo en un lactante (rango etario donde E .coli es el primer agente causal de diarrea) no alcanzará con identificar fenotípicamente como E. coli una cepa aislada del coprocultivo, sino que habrá que determinar que esta cepa posee los determinantes de patogenicidad adecuados. Una opción, es identificar la presencia de los genes que codifican para estos determinantes.

Para esto, se han desarrollado técnicas denominadas de hibridación por sondas, que se basan en las propiedades de complementariedad de bases del ADN. Una sonda, es un fragmento de ADN complementario a una región de un gen que nos interesa identificar, que ha sido marcada con algún indicador que pueda ser detectado luego de la hibridación. El marcado puede realizarse incorporando nucleótidos radioactivos o biotinilados o marcados con digoxigenina. Si en un cultivo bacteriano interesa saber si ésta posee el gen X cuya secuencia conozco, podremos construir una sonda específica para dicho gen, extraer el ADN del cultivo y mezclarlo con nuestra sonda, en condiciones que permitan desnaturalizar la estructura de doble cadena del ADN para permitir que la sonda logre hibridar con su secuencia complementaria. De esta forma, podremos evidenciar si nuestro cultivo posee o no el gen buscado, ya que de estar presente, encontraremos la marca correspondiente a la sonda incorporada en la estructura del ADN. Esta técnica puede utilizarse aplicando la sonda directamente sobre una muestra clínica, por ejemplo una sección tisular, y en ese caso se denomina hibridación in situ.

Hoy se dispone de muchas sondas específicas de ADN empleadas para el diagnóstico de muchas enfermedades bacterianas. La hibridación por sondas, así como otros métodos que comentaremos para detectar un gen en particular, es especialmente útil para realizar el diagnóstico etiológico de infecciones producidas por microorganismos cuyo cultivo es dificultoso, ya sea por un crecimiento muy lento, como puede ser el caso de Micobacterium spp., o por tener requerimientos especiales para su cultivo y aislamiento, como en Chlamydia sp. y Rickettsia sp. o en los virus.

El mayor problema en el diagnóstico utilizando hibridación por sondas, ha sido la baja sensibilidad de la técnica, ya que se requiere que en la muestra existan suficientes copias del gen buscado, como para que la marca correspondiente a la sonda sea detectada. En general, las técnicas de hibridación in situ con sondas no radioactivas, son capaces de detectar solo más de 200 copias del gen. Por esto, muchas veces la sensibilidad de la técnica no es suficiente como para descartar como muestras negativas a aquellas con las que se obtienen resultados negativos.

Uno de los más interesantes avances en el área de diagnóstico clínico, ha sido el desarrollo de un método que permite amplificar el número de copias de un determinado fragmento de ADN de interés. Esta técnica, llamada Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP), más conocida por su sigla en inglés PCR, permite la generación de millones de copias exactas de un fragmento de ADN, a partir de tan solo 1 copia original en apenas 2 o 3 horas. La PCR se basa en las propiedades de la replicación del ADN, que puede reproducirse in vitro si se coloca el ADN molde, en una mezcla de reacción con una enzima ADN polimerasa, nucleótidos y cebadores específicos para las regiones flanqueantes del fragmento que se desea amplificar. Esta mezcla, se coloca en condiciones de pH y osmóticas tales que permitan el funcionamiento adecuado de la polimerasa, y en condiciones de temperatura distintas. Primero, a altas temperaturas (94 o 95 grados) para lograr que el ADN se desnaturalice, es decir que se separen ambas hebras; segundo, a temperaturas adecuadas para que los cebadores hibriden con el ADN molde (entre 40 y 55 grados, según los cebadores); y en tercer lugar, a la temperatura adecuada para que la polimerasa de ADN lleve a cabo el proceso de replicación. Las polimerasas que se utilizan, deben ser capaces de tolerar altas temperaturas de desnaturalización del ADN, por lo que la enzima utilizada, corresponde a una bacteria termófila, Thermus aquaticus, por lo cual se la llama Taq polimerasa, cuya temperatura óptima es de 72 grados. Hoy día se utiliza ésta y también otras enzimas, producidas en forma recombinante en E. coli .

Estos cambios de temperatura, se realizan en un equipo conocido como termociclador, que es capaz de variar entre rangos muy amplios de temperatura en tiempos muy cortos. Este ciclado de temperaturas, por ejemplo 94º por 1 minuto, 45º por 1,5 minutos y 72 º por 1, 5minutos se repite unas 30 veces, con lo que se logra que en cada ciclo se duplique el número

de copias de cada una de las hebras del ADN molde, con lo que se logra un crecimiento exponencial.

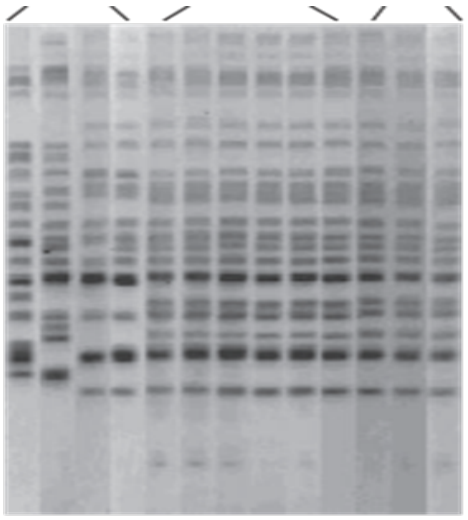
Este procedimiento, puede aplicarse directamente sobre una muestra clínica, buscando determinar la presencia o ausencia de un microorganismo en particular, a través de la detección de una secuencia específica en su ácido nucleico.

Para revelar el resultado del ensayo, la mezcla de reacción debe ser utilizada como muestra en una corrida electroforética en gel de agarosa o de poliacrilamida, en donde el ADN migra desde el polo negativo al positivo, en mayor o menor medida según su peso molecular, es decir su tamaño en pares de bases. El fragmento a amplificar, es por supuesto de un tamaño conocido, por lo que podrá determinarse la presencia del gen buscado en la muestra, porque habrá amplificado en la reacción y presentará una banda del tamaño correspondiente en el gel.

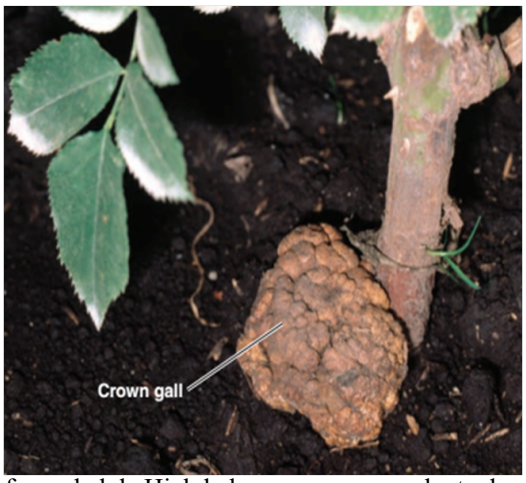
Los geles deberán ser revelados para que desarrollen una reacción de color visible, que nos ayude a determinar la presencia o ausencia de la banda de interés. En el caso de los geles de agarosa, el revelado se hace generalmente con bromuro de etidio, que es un agente intercalante del ADN, es decir que su molécula se intercala entre las bases del ácido nucleico. Este procedimiento, resulta en un "teñido" del gel, ya que el bromuro de etidio tiene la propiedad de fluorescer bajo luz ultravioleta al ser expuesto el gel a UV, se evidenciará la presencia o ausencia de la banda correspondiente. En el caso de los geles de poliacrilamida, el revelado puede realizarse por tinción con nitrato de plata. El resultado de la PCR, también puede hacerse evidente, combinado la PCR con una técnica de hibridación por sondas. Esto se logra transfiriendo el ADN del gel a una membrana (por ejemplo de nitrocelulosa), y poner a ésta en contacto con una sonda específica. En este caso, el revelado lo brinda la marca de la sonda. Este procedimiento de transferencia de ADN a una membrana combinado con hibridación por sondas, se denomina Southern Blott.

Si bien hemos centrado el interés de estas técnicas de detección de ácidos nucleicos para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas, también son muy utilizados hoy día para diagnosticar una amplia gama de enfermedades como neoplásicas y hereditarias.

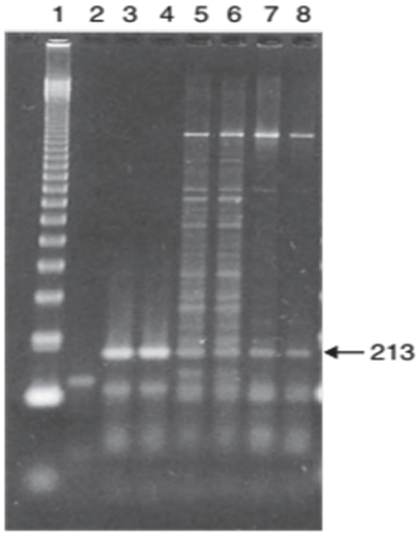
La aplicación de la biotecnología molecular a la Medicina, representa un campo de intensa investigación y vertiginoso desarrollo. La prevención, el tratamiento y el diagnóstico de muchas enfermedades que hasta hace pocos años resultaba imposible, hoy son una realidad, y cada vez más la biología molecular aporta conocimientos y tecnología aplicables a la mejora de la calidad de vida y la salud humana.



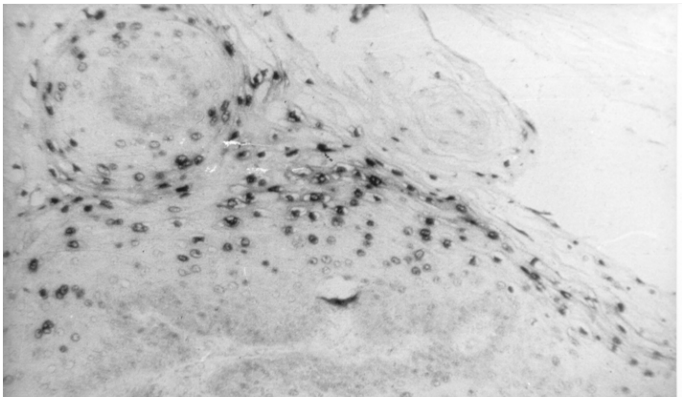
Restricción del fragmento largo de ADN (RFLP) usada para rastrear huellas genómicas de Escherichia coli



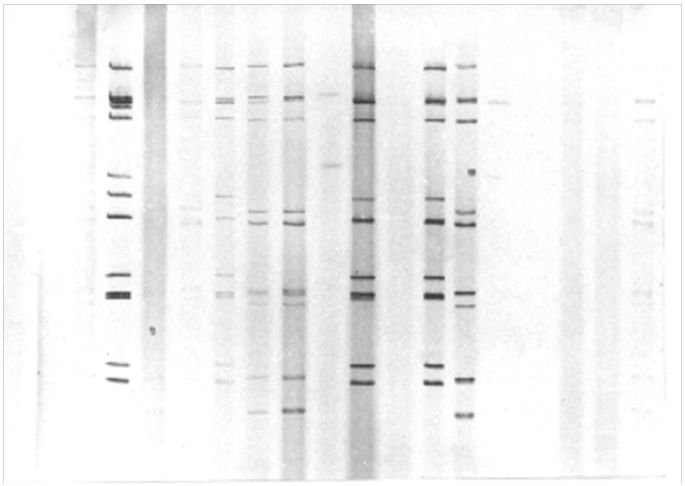
Enfermedad de Hiel de la corona en una planta de rosa



Resultados de PCR sobre muestras de pacientes. La banda de 213 pares de bases corresponde a Norovirus



Hibridación in Situ “in home “ con sonda de HPV 16 biotinilada producida a partir de un plásmido recombinante inserto en E coli con R a AMP. Provisto por Harald Zur Hausen, luego del cultivo bacteriano en medio líquido con AMP se extrajo el DNA bacteriano y se biotiniló via Nick translation. Los núcleos oscuros son HPV 16 positivos



Electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) para la detección de los fragmentos genómicos de Rotavirus

Bibliografia

• Brook Biología de los Microoorganismos. España 1997

• Murray. P, Barón E. at al 1999 Manual of Cliinical Microbiology. ASM press 7 Edition. Washington DC. USA.

Capítulo 10

Resistencia bacteriana, drogas antimicrobianas y pruebas de sensibilidad

El beneficio mayor de los antibióticos ha sido que el ser humano ha perdido el temor a las enfermedades, sin adquirir el temor a los antibióticos… Hoy los humanos somos el plato preferido de los microbios.
"¡OH!" Piolín de Macramé (seudónimo de Florencio Escardó) Editorial Americalee. 2da. Ed. 1966.

Introducción

El problema de la resistencia (R) a las drogas antimicrobianas

Desde el advenimiento de la penicilina, descubierta al azar por Alexander Fleming en 1929, las bacterias han expresado numerosas formas de contrarrestar la acción de estas llamadas "drogas maravillosas".

Durante millones de años los microorganismos han convivido y luchado por un espacio en la ecología microbiana y para esto tuvieron y aún tienen la potencialidad de producir sustancias que les permite su asentamiento casi sin competencia con sus congéneres.

Así, a los pocos años del uso terapéutico de la penicilina, surgió una cepa de Staphylococcus aureus productora de penicilinasas. Esto se debió a la expresión de un mecanismo de resistencia originado en los miles de años de contacto de Staphylococcus aureus con un producto biológico producido por el hongo Penicillium notatum en la naturaleza y que es la penicilina.

Paralelamente al desarrollo de nuevas drogas antimicrobianas, las bacterias han fabricado nuevos mecanismos de resistencia (R) transformándose en una amenaza en aquellas infecciones que ponen en peligro la vida.

Los mecanismos básicos de R bacteriana son bien conocidos, pero se descubren continuamente nuevos aspectos. La mayoría de las bacterias tienen múltiples rutas para adquirir R a nuevos agentes y rápidamente se diseminan dichos mecanismos a un alto número de sus progenies y aún de otras.

La selección natural favorece los mecanismos que confieren R y los antimicrobianos contribuyen activamente a la permanencia de estas cepas.

A este potencial bioquímico y genético se debe agregar otro factor, la amplia variedad de bacterias que causan infecciones oportunistas en pacientes vulnerables por inmunocompromiso que aumentan rápidamente de acuerdo con los avances de la tecnología y la terapéutica.

Definiciones

La bibliografía usa muchos términos en forma indistinta refiriéndose a drogas con acción frente a microorganismos, pero cada uno de ellos encierra un concepto diferente.

Antibiótico: sustancia sintetizada por un agente biológico (bacterias u hongos) que actúa inhibiendo o matando microorganismos, fundamentalmente bacterias.

Quimioterápico: es una sustancia que resulta de la síntesis química que actúa inhibiendo o matando microorganismos.

Antimicrobiano (ATM): sustancia resultado de síntesis química parcial o total o producida por microorganismos y que tiene acción sobre bacterias, hongos, virus y parásitos.

De esto se desprende que antimicrobiano sería el término que mejor se corresponde con estas drogas.

Un antimicrobiano ideal debería reunir las siguientes características:

1) Poseer acción selectiva: esto significa que actúe sobre estructuras propias del agente, no compartidas con la célula eucariota lo que garantiza baja toxicidad como por ejemplo: pared celular y antimicrobianos betalactámicos.

2) Tener acción bactericida: significa muerte bacteriana por lisis.

3) No inducir resistencia ni seleccionar bacterias resistentes.

4) Permanecer estable en los líquidos corporales y tener un largo período de actividad.

5) Ser soluble en humores y tejidos.

6) No provocar efectos tóxicos ni colaterales (alergias, toxicidad hepática, renal, ótica).

7) Tener un espectro de acción limitado lo que garantiza no alterar demasiado la microbiota normal.

El "lenguaje" de los antimicrobianos

Para comprender este extenso y dinámico capítulo de los antimicrobianos es necesario tener en claro sus diferentes ítems:

Clasificacion de los antimicrobianos

Mecanismos de acción de los antimicrobianos
Mecanismos de resistencia de los antimicrobianos
Factores de transferencia de resistencia
Expresión de la resistencia

Clasificación de los antimicrobianos (ATM)

Existen diferentes criterios para agrupar los ATM de acuerdo a :
• origen
• efecto
• espectro
• mecanismo de accion
• estructura quimica

Origen
Una sustancia antimicrobiana de acuerdo a su procedencia puede ser:
1. Natural o biológica: si es el producto de un agente biológico: bacteria u hongo.
2. Sintética: producto total de síntesis de laboratorio.
3. Semisintética: el origen es desde un agente biológico, pero se realizan modificaciones en el laboratorio.

Efecto
Bacteriostático: las concentraciones que el ATM alcanza en suero y tejidos inhiben el desarrollo y la multiplicación sin destruir la bacteria. Al retirar el ATM el microorganismo puede multiplicarse de nuevo.
Bactericida: en este caso las concentraciones alcanzadas tienen acción letal ya que producen lisis bacteriana y por ende muerte celular.

Espectro
Hace referencia al abanico de bacterias sobre el cual actúa un ATM. Por ello se clasifican en:
1. De amplio espectro: son aquellos que actúan sobre un amplio número de especies bacterianas.
2. De espectro intermedio: tienen acción sobre un número limitado de especies.
3. De espectro reducido: solamente son activos en un número pequeño de especies bacterianas.

Mecanismo de acción
Para que un ATM ejerza su acción es necesario que llegue al foco de infección, penetre en la célula bacteriana y alcance dentro de ella la concentración necesaria. El ingreso puede ser por difusión o transporte activo.
Actúan en un sitio determinado de la estructura bacteriana que es específico para cada ATM. Ese sitio se denomina sitio "diana", "target " o "blanco".
De acuerdo a este sitio diana (es decir sobre el que el ATM ejerce su acción) se reconocen varios mecanismos de acción:

1- Inhibición de la síntesis de la pared.
2- Acción detersiva sobre la membrana citoplasmática.
3- Inhibición de la síntesis proteica.
4- Bloqueo de la síntesis de ácidos nucleicos
5- By pass funcional

Los antimicrobianos que actúan sobre la pared y sobre la membrana tienen acción lítica sobre la cèlula bacteriana al igual que algunos que actúan sobre los ácidos nucleicos y cuyos mecanismos de acción se desarrollan más adelante.

1.Inhibición de la síntesis de la pared
La síntesis de la pared es un proceso complejo en el que intervienen por lo menos 30 enzimas y tiene lugar en 4 etapas, en cada una de las cuales actúan diferentes ATM.

1º Etapa: Formación del precursor del N -acetil murámico (fosfomicina - cicloserina).
2º Etapa: Transporte del precursor (bacitracina).
3º Etapa: Formación del polímero lineal (vancomicina)
4º Etapa: Transpeptidación (beta lactámicos).

En este mecanismo de acción adquieren importancia los glucopéptidos y los betalactámicos que actúan en la tercera y cuarta etapas de la formación del peptidoglicano, respectivamente.

2. Acción detersiva sobre la membrana citoplasmática

Los ATM que actúan a este nivel se comportan como detergentes catiónicos debido al alto contenido lipídico de la membrana (fosfolípidos) y por lo tanto se altera la permeabilidad e integridad osmótica por lo que la célula pierde proteínas, iones y ácidos nucleicos. El grupo más importante es el de las polimixinas.

3. Inhibición de la síntesis proteica

Diversos ATM, inhiben la síntesis proteica en dife-

rentes etapas de la misma actuando a nivel ribosomal en las subunidades 30 S y 50 S.
· En la subunidad 50 S actúan: macrólidos, lincosamidas, fenicoles, ácido fusídico y espectinomicina
· En la subunidad 30 S actúan: tetraciclinas y aminoglucósidos.

En general los ATM que inhiben la síntesis proteica tienen efecto bacteriostático excepto los aminoglucósidos que son bactericidas.

4. Bloqueo de la síntesis de ácidos nucleicos

Esta acción se realiza de 3 formas:
-Interfiriendo la replicación del ADN (quinolonas).
-Impidiendo la transcripción (rifamicinas).
-Inhibiendo la síntesis de metabolitos esenciales: ácido fólico (Sulfonamidas - Trimetroprima).

De estos ATM tienen acción bactericida: rifamicinas y quinolonas

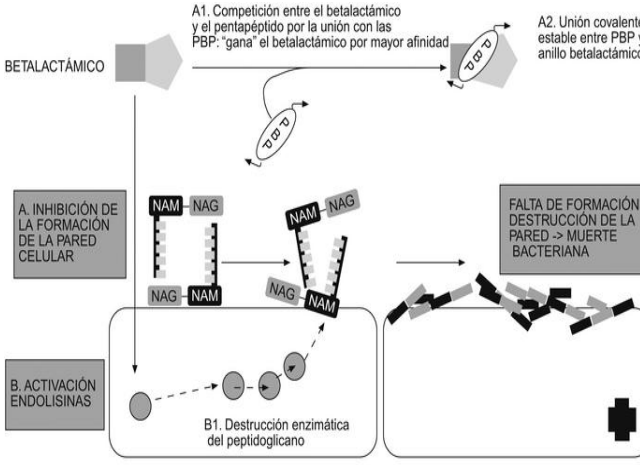
5. Acción sobre las vías metabólicas

Las bacterias pueden utilizar la vía de la síntesis de folatos para obtener ácido fólico del medio externo, necesario en la síntesis de ácidos nucleicos y purinas. Aquí actúan las sulfamidas y trimetroprima. Las sulfamidas actúan como antimetabolito compitiendo con el ácido paraaminobenzoico por la enzima Dihidropteroato sintasa. La trimetroprima inhibe la enzima dihidrofolato reductasa de forma reversible.
Ambos antimicrobianos actúan de manera sinérgica en esta vía bloqueándola, por tal motivo se suministran combinados.

Clasificación según su estructura química:
Daremos algunos ejemplos, los mas relevantes

1. Beta lactámicos: penicilinas, cefalosporinas, monobactamas y carbapenemas
2. Glucopéptidos: vancomicina-teicoplanina
3. Polipéptidos: polimixinas (Polimixina B y colistin)
4. Macrólidos : eritromicina-azitromicina
5. Aminoglucósidos: gentamicina - amikacina
6. Tetraciclinas: tetraciclina-minociclina
7. Fenicoles: cloranfenicol
8. Quinolonas: norfloxacina–ciprofloxacina-levofloxacina
9. Rifamicinas: rifampicina
10. Sulfonamidas: sulfamidas
11. Lincosamidas: clindamicina- lincomicina
12. Oxazolidonas: linezolid
13. Lipopéptido cíclico: daptomicina

Betalactámicos
Los betálactamicos son un grupo muy grande de ATM y sobre los que se trabaja activamente para conseguir nuevas moléculas de mayor actividad en relación a la diversidad de mecanismos de resistencia aparecidos.
Deben su nombre al hecho que poseen un anillo beta lactámico que es el sitio activo. Este anillo se enlaza fuertemente con el sitio activo de las transpeptidasas (proteínas ligadoras de penicilina: PLP) efectuándose el paso llamado transpeptidación, fase final de la organización de la pared bacteriana, muy importante ya que entrecruzan pentapéptidos en la mureína y la pared. Puede resistir la lisis osmótica.
Los betalactámicos inhiben la síntesis de la pared celular al unirse a las proteínas ligadoras de penicilina (PLP). La inhibición de la transpeptidación conlleva una desestructuración de la pared y con posterioridad la bacteria pone en marcha un sistema de enzimas autolíticas y se destruye (Figura 1).
Las autolisinas son de dos tipos: amidasas y glucosidasas, y se activan cuando la síntesis de la pared celular es incompleta. Algunas cepas carecen de enzimas autolíticas y no se destruyen por acción de betalactámicos y se denominan tolerantes.
No son activos frente a bacterias que carecen de pared (Mycoplasma spp.) o agentes patógenos intracelulares.(Brucella spp., Legionella spp. y Chamydia spp.).



NAM: Ácido N-acetilmurámico; NAG: Ácido N-acetilglucosamina: PBP: Penicillin Binding Protein

Figura 1. Mecanismo de acción de los betalactámicos. Antibióticos betalactámicos. Beta-lactam Antibiotics Cristina Suárez, Francesc Gudiol . Enferm Infecc Microbiol Clin. 2009;27:116-

29.

Se clasifican en :
Penicilinas naturales
Peniclina G sódica o bencilpenicilina (benzatínica)
Penicilina V o fenoximetilpenicilina
Penicilinas semisintéticas
Resistentes a las penicilinasas:oxacilina-meticilina-dicloxacilina'
Aminopenicilinas: ampicilina-amoxicilina (penicilinas de amplio espectro)
Carboxipenicilinas: carbenicilina-ticarcilina
Ureidopenicilinas: piperacilina-mezlocilina
Asociadas a inhibidores de betalactamasas: ampicilina-sulbactam, amoxicilina-clavulánico, piperacilina-tazobactam, ceftolozano-tazobactam, ceftazidima-avibactam.
Sulbactam, tazobactam, avibactam no tienen acción antibacteriana por sí mismos, su actividad radica en inhibir competitivamente a las betalactamasas, mejorando el espectro de acción del antimicrobiano al cual se asocian.
Cefalosporinas: se clasifican en cefalosporinas de primera segunda,tercera y cuarta generación de acuerdo a su estructura química y espectro de actividad.
Primera generación:cefalotina-cefazolina.
Segunda generación: cefuroxima-cefaclor
Tercera generación: cefotaxima-ceftazidima-ceftriaxona.
Cuarta generación:cefepima.
Quinta generación: ceftobiprole-ceftarolina.
Existen otros antibióticos beta lactámicos con el mismo núcleo de origen y son:
Monobactamas: aztreonama
Carbapenemes: imipenem-meropenem-ertapenem-doripenem.

Espectro de acción
Los antibióticos betalactámicos son utilizados en una gran variedad de agentes etiológicos, Gram positivos y Gram negativos. Tienen indicaciones precisas y espectro de actividad diferentes para cada uno de los grupos. El criterio de selección de antimicrobianos rige su uso de acuerdo al agente y la localización de la infección.
Son el grupo sobre el cual más trabaja la investigación farmacéutica, por su baja toxicidad y su alta selectividad de acción, pero lamentablemente son los más atacados por enzimas inactivantes. Se conocen más de 800 enzimas inactivantes de estas drogas y son penicilinasas, betalactamasas de espectro ampliado: BLEA (afectan a aminopenicilinas ampicilina y derivados), betalactamasas de espectro extendido: BLEE (afectan a cefalosporinas de tercera generación) y las últimas aparecidas carbapenemasas que inactivan a carbapenemes, los antimicrobianos más activos frente a bacilos Gram negativos multirresistentes.

Glucopéptidos
Son moléculas grandes por lo tanto no pueden penetrar la membrana externa de las bacterias Gram negativas. Se encuentran disponibles vancomicina y teicoplanina.
Los glucopéptidos interfieren en la síntesis de la pared celular al unirse al D-ala-D-ala de las cadenas de pentapéptidos que son parte de su estructura y evitan la incorporación de nuevas subunidades a la pared en crecimiento.
Estos ATM son útiles frente a cocos y bacilos Gram positivos: Staphylococcus aureus multirresistente y Corynebacterium spp.
La resistencia adquirida a estos agentes es poco habitual, aunque cada vez se comunica con mayor frecuencia como ocurre con los enterococos y estafilococos.

Polipétidos
La polimixina B y la colistina son polipéptidos cíclicos de gran tamaño que rompen la estructura de las membranas celulares. Los grupos aminos libres de las polimixinas actúan como detergentes o tensioactivos catiónicos, destruyendo la estructura fosfolipídica de la membrana celular y provocando la salida de constituyentes del interior de la célula. Son bactericidas y se utilizan para tratar infecciones graves producidas por bacilos Gram negativos multirresistentes por ejemplo: Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter spp. ,que pertenecen a las bacterias Gram negativas no fermentadoras y son un serio problema en infecciones asociadas al cuidado de la salud. A pesar de tener gran actividad antimicrobiana, tienen el inconveniente de tener escasa difusión tisular, salvo en tejido renal pero son muy tóxicos a este nivel.

Macrólidos
Los macrólidos son moléculas cíclicas de gran tamaño que presentan un anillo lactona. La eritromicina, producto de síntesis de Streptomyces erythraeus es el mas conocido, pero también constituye este grupo de drogas: azitromicina, claritromicina, roxitromici-

na entre otras. Actúan inhibiendo la síntesis proteica bacteriana mediante la unión del antibiótico a la unidad 23S de la subunidad 50S del ribosoma para inhibir la elongación de la cadena peptídica durante la síntesis proteica S del ribosoma.
Son activos frente a cocos Gram positivos, micoplasmas y algunas bacterias Gram negativas y constituyen una alternativa terapéutica en pacientes alérgicos a penicilina.

Fenicoles
La droga representativa del grupo es el cloranfenicol, inicialmente obtenido de Streptomyces venezuelae. Actualmente es producto de síntesis en el laboratorio.
Su mecanismo de acción es la inhibición de la síntesis proteica por unión al rRNA23S de la subunidad 50S del ribosoma. Inhibe entonces la peptidiltransferasa.
Como todas las drogas que actúan en la síntesis proteica, es bacteriostático.
Su espectro de acción es amplio, pero su uso clínico es acotado ya que ha demostrado producir numerosos efectos tóxicos y colaterales a nivel sanguíneo por acción sobre la médula ósea y en su metabolismo se detoxifica en el hígado, razón por la cual no es útil en infecciones del tracto urinario.

Aminoglucósidos
Son un grupo de antimicrobianos producidos por especies de Streptomyces spp. y Micromonosporas. El núcleo de origen es una molécula ciclica como el azúcar inositol o un derivado del inositol en los cuales un grupo hidroxilo es sustituido por un grupo amino de ahí el nombre de aminoglucósidos.
Actúan interfiriendo la unión de la ARN transferasa a la porción 30 S ribosomal y evitan la formación de los complejos de iniciación a partir de los cuales se produce la síntesis de proteínas.
Tienen un amplio espectro y son bactericidas.
En general son útiles para tratar infecciones graves producidas por bacterias Gram negativas y en asociación con betalactámicos para infecciones severas producidas por Enterococcus spp. y algunas especies de Streptococcus viridans. Son ineficaces frente a bacterias anaerobias.
Son tóxicos en tratamientos prolongados a nivel del 8vo par craneal (sordera) y a nivel renal.
Los aminoglucósidos más usados son: gentamicina, amikacina y estreptomicina.

Tetraciclinas
Las tetraciclinas actúan uniéndose a la subunidad ribosomal 30 S impidiendo la elongación del péptido. Son antibióticos bacteriostáticos de amplio espectro que penetran bien en las células del huésped. Dentro de este grupo están: tetraciclina, minociclina, doxiciclina y tigeciclina. El espectro de acción es amplio e incluye Staphylococcus spp. ,Neisseria gonorrhoeae, Vibrio cholerae y numerosas infecciones por bacterias intracelulares como Chlamydia spp. Rickettsia spp. y Mycoplasma pneumoniae.
El uso de este grupo de antimicrobianos presenta muchos efectos adversos y colaterales, como tinción de la dentadura en niños pequeños por lo que está contraindicado en menores de 12 años y embarazadas. Ademas, debido a su amplio espectro suelen producir superinfeccion por disbacteriosis en la microbiota intestinal y ocupación de receptores por agentes productores de diarreas como Stahylococcus aureus y Candida spp.

Rifamicinas
Las rifamicinas son inhibidoras de la transcripción. Se enlazan con la subunidad beta del RNA dependiente del DNA, por consiguiente bloquean la iniciación de la cadena durante le síntesis del DNA. El espectro de acción incluye Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium leprae, Staphylococcus spp. y profilaxis para Neisseria meningitidis en estados de portación.
Es un antimicrobiano que posee efectos tóxicos sobre el hepatocito y su uso debe ser asociado con otros antimicrobianos por la rápida aparición de resistencias intratratamiento.

Quinolonas
Son antimicrobianos de amplio espectro que actúan impidiendo la síntesis de ácidos nucleicos, inhibiendo la DNA girasa en un primer paso y luego la topoisomerasa 4 lo que impide el superenrollamiento del DNA produciéndose la muerte bacteriana, ya que el DNA no puede replicarse.
La primera quinolona fue el ácido nalidíxico y luego el ácido pipemídico. Ambas son quinolonas de primera generación y el espectro era casi exclusivo para bacilos Gram negativos en infecciones de vías urinarias. Luego aparecieron las quinolonas fluoradas con espectro más amplio y gran difusión tisular.
Existen numerosas quinolonas entre las cuales se encuentran: norfloxacina que sigue siendo de utilización en infecciones del tracto urinario, ciprofloxacina, ofloxacina, levofloxacina y moxifloxacina que alcan-

zan muy buenas concentraciones en otros órganos, como el pulmón.

Sulfonamidas y trimetoprima

El compuesto antibiótico Trimetoprima- sulfametoxazol pertenece al grupo de antimicrobianos llamados antimetabolitos. La aparición de la sulfanilamida a comienzos de 1930 inició la era de los antimicrobianos, una droga de escasa actividad in vitro pero de gran actividad in vivo. A partir de ella surgieron numerosos compuestos muy pocos de los cuales se utilizan con indicaciones precisas.

Son antibióticos bacteriostáticos que inhiben la formación de ácido fólico al actuar como inhibidores competitivos de la sintetasa de dihidropteroato. El ácido fólico es esencial para la síntesis de purinas, glicina, metionina y timina.

La aplicación más frecuente de las sulfonamidas es la combinación con trimetroprima para el uso en numerosas infecciones por bacilos Gram negativos y Staphlylococcus spp.

Fosfomicina

Es un agente bactericida, parietolítico, derivado del ácido fosfónico que actúa a nivel de la pared celular bloquea la síntesis de los precursores del peptidoglicano. Inicialmente derivado de Streptomyces, en la actualidad se obtiene por síntesis química. Es un antibiótico de amplio espectro con actividad sobre Gram positivos y Gram negativos, incluso para enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido, presentando actividad frente a los principales géneros como Staphylococcus spp, Enterococcus spp, Enterobacterias, Pseudomonas spp y Acinetobacter spp. Existen presentaciones para via parenteral y via oral.

Es un antimicrobianos de los viejos a tener en cuenta en la actualidad, ya que ha resurgido para ser utilizado frente a las nuevas resistencias antimicrobianas.

Oxazolidinonas (Linezodil)

Las oxazolidinonas constituyen una nueva clase de antimicrobianos, con un mecanismo de acción distinto a los conocidos previamente, que se han introducido para hacer frente al creciente problema de la aparición de bacterias grampositivas multirresistentes a los antimicrobianos de los que se dispone en la actualidad (fundamentalmente Staphylococcus aureus y Enterococcus faecium).

Linezolid posee una estructura tricíclica que sería la responsable de su actividad frente a los estafilococos resistentes a la meticilina, constituyendo una alternativa frente a estas cepas. También es activo, también frente a algunos anaerobios.

Daptomicina

Daptomicina es un producto natural derivado del metabolismo de Streptomyces roseosporus y fue desarrollada en 1985. Miembro exclusivo de una nueva familia de antimicrobianos conocida como lipopéptidos cíclicos. Tiene un mecanismo de acción único que le confiere un potente efecto bactericida sobre los microorganismos susceptibles como lo son los cocos Gram positivos de importancia clínica como Staphylococcus aureus y Enterococcus spp., fundamentalmente sobre aquellos resistentes a antimicrobianos habituales

Resistencia Bacteriana

Los ATM han contribuido a salvar vidas y a aliviar a muchas personas de las llamadas “viejas” enfermedades infecciosas. La reemergencia de algunas de ellas se debe a la aparición de resistencia a los ATM.

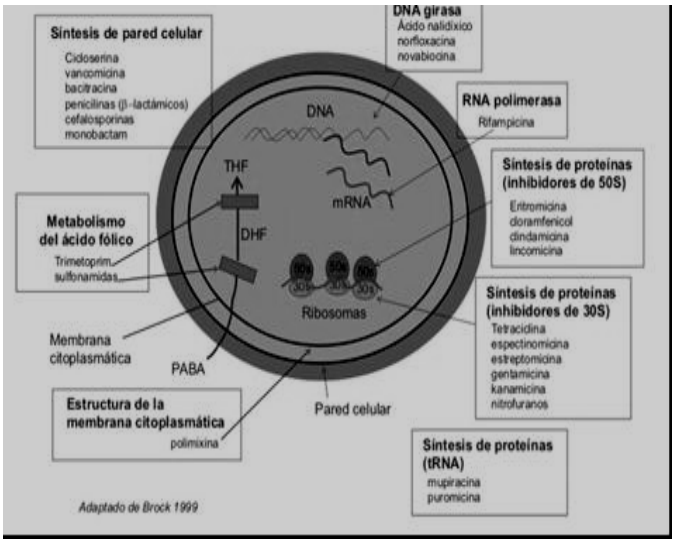


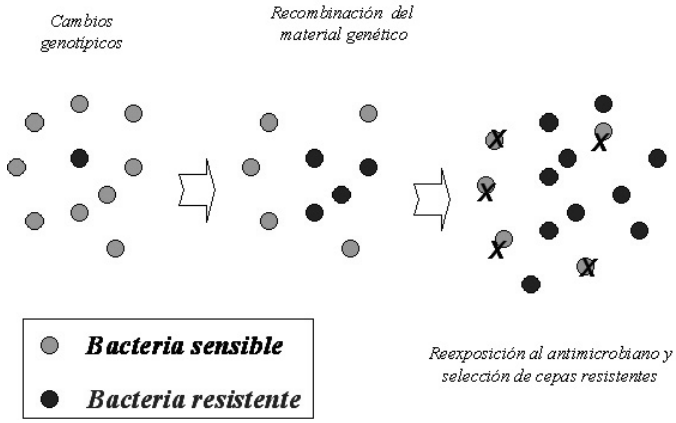
Figura 2. Mecanismos de acción de los diferentes ATM sobre la célula bacteriana. Madigan, M et al. 2003. En: Brock Biología de los Microorganismos.

En el caso de las bacterias una de las teorías sería el uso excesivo que se ha hecho de los ATM, lo cual las ha obligado a desarrollar y expresar mecanismos de resistencia.

La resistencia de los microorganismos a los ATM no es un problema reciente, desde el advenimiento de las primeras drogas con acción ATM se ha difundido, y agravado con el correr del tiempo.

Fundamentalmente las bacterias han fabricado y expresado mecanismos que les permiten eludir la acción de la mayoría de estas drogas que aparecen en el mercado. Algunos investigadores refieren el problema como el regreso a la era pre-antibiótica.
Esta situación afecta tanto a pacientes hospitalizados como a pacientes de la comunidad. En el hospital las bacterias "problemas" son: Staphylococcus aureus, enterobacterias (Klebsiella pneumoniae,Enterobacter spp, bacilos Gram negativos no fermentadores (Pseudomonas spp., Acinetobacter spp., Stenotrophomonas maltophilia) y Enterococcus spp. En la comunidad: Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Neisseria gonorrhoeae, M. tuberculosis.
La razón más importante de la aparición de bacterias resistentes es el uso inapropiado de ATM y la selección de dichas bacterias en una determinada población. Esta relación causal está perfectamente estudiada por muchos entes internacionales y en nuestro país se ha demostrado igual tendencia por el alto consumo de ATM tanto en pacientes hospitalizados como ambulatorios.

Aparición, incremento y diseminación de la resistencia bacteriana



Resistencia (R): es la disminución o ausencia de sensibilidad de una cepa bacteriana a uno o varios ATMs

La R se puede clasificar:

· Según su naturaleza: a. R. primaria.
b. R. Secundaria.

R. Primaria: (natural, intrínseca o insensibilidad): no existe blanco de acción: estructura o etapa metabólica adonde el ATM pueda actuar, es decir que los MO no se hallan en el espectro del ATM.
Un ejemplo lo constituye Proteus spp. frente a las polimixinas.

R. Secundaria: es la que se origina por adquisición de nuevos mecanismos de resistencia en una población bacteriana sensible o selección de cepas resistentes.

· Según sus bases genéticas: a. Cromosómica
b. Extracromosómica

R. cromosómica: es la resultante de una mutación en un locus cromosómico que controla la sensibilidad a un ATM determinado; un fenómeno poco frecuente. Acontece de manera espontánea, es persistente y se transmite por herencia. No constituye un problema importante en el contexto de la R bacteriana a no ser que vaya seguido de una selección de mutantes resistentes. Como ocurre en M. tuberculosis frente a drogas antituberculosas .

R. extracromosómica: es la resultante de mecanismos de transferencia de genes esencialmente de elementos extracromosómicos: plásmidos ,transposones e integrones que vehiculizan mensajes de resistencia.
Esta es la más importante epidemiológicamente y desde el punto de vista terapéutico ya que es de rápida diseminación de bacteria a bacteria del mismo género, interespecies y a otros géneros.

Factores de transferencia de resistencia
Muchos genes ocupan una posición fija en el cromosoma. Otros sin embargo cambian posición. Estas secuencias móviles se denominan elementos genéticos transponibles. Existen en procariotas y en eucariotas. Éstos son: plásmidos, transposones e integrones
Los plásmidos son elementos genéticos auxiliares (ADN extracromosómico) que generalmente son independientes del cromosoma bacteriano. Se los conoce también como replicones.
Contienen información genética adicional responsable de la aparición de nuevas propiedades fenotípicas en una célula bacteriana, por ejemplo:

a - factores de virulencia bacteriana.
b - enzimas de vías metabólicas.
c - resistencia a antibacterianos.

Los plásmidos de resistencia a las drogas (plásmidos R) transportan genes de resistencia a los antibióticos y con frecuencia varios genes de resistencia son transportados por un único plásmido R. Estos tipos de plásmidos son anteriores a la era moderna de la terapéutica antimicrobiana.
Los transposones también llamados genes saltarines

son pequeñas moléculas de DNA que pueden insertarse en plasmidos,en DNA cromosomal o en integrones y transferir mecanismos de resistencia.
Los integrones también llamados genes en cassette pueden transferir una gran cantidad de información de resistencias a múltiples drogas antimicrobianas.

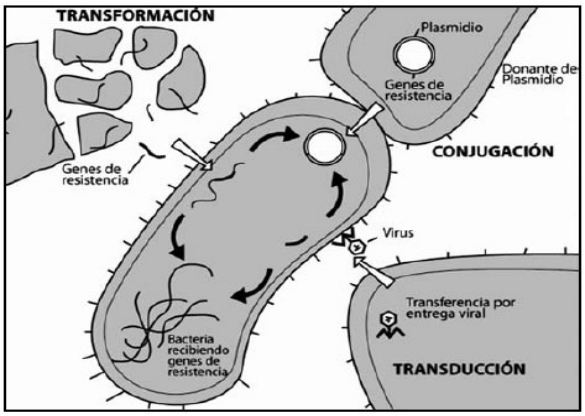


Figura 3. Mecanismos de transferencia de genes. Moreno, C y col. Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza y Cuello v.69 n.2 Santiago, ago. 2009.

Expresión de la resistencia
La recepción de factores de transferencia de resistencia (plásmidos, transposones o integrones) permite que la célula bacteriana exprese "mensajes" de diferentes tipos de resistencia:

a. producción de enzimas inactivantes: la droga es inactivada por betalactamasas periplásmicas.
b. impermeabilidad: el ATM no puede ingresar (múltiples mecanismos).
c. eflujo: el ATM ingresa pero la bacteria lo elimina.
d. alteración del sitio blanco: el ATM no reconoce el sitio blanco.
e. mecanismo de by pass metabólico: descripto para trimetoprima-sulfametoxazol: las bacterias realizan un paso metabólico que les permite obtener el acido fólico directamente del medio (este es un metabolito esencial).

PRUEBAS DE SENSIBILIDAD ANTIBACTERIANA
Estudiar el comportamiento de las bacterias frente a los antibacterianos es imprescindible porque la actividad de las drogas es limitada y las bacterias tienen capacidad de desarrollar resistencia.
El estudio de la sensibilidad de las bacterias a los ATM también es importante para conocer la manera de respuesta de nuevos patógenos y la actividad de nuevos preparados.

Si bien las bacterias tienen un patrón de sensibilidad conocido (por ejemplo: S. pyogenes ha sido y es sensible a penicilina), dicho patrón puede ser conocido pero cambiante por los diferentes mecanismos que las bacterias ponen en juego para adquirir resistencia. Esto explica que por ejemplo E. coli sensible por décadas a ampicilina tenga ahora un alto porcentaje de cepas resistentes a tal antibiótico.
Numerosas técnicas se utilizan desde el laboratorio a fin de detectar estos "cambios" en la sensibilidad antibacteriana y fundamentalmente las técnicas van dirigidas a géneros bacterianos de gran importancia como agentes en infectología clínica y cuyo patrón de sensibilidad es conocido pero cambiante: Enterobacterias - Staphylococcus spp. - Pseudomonas spp. - Neisseria spp. - Acinetobacter spp. - Enterococcus spp.
Pruebas directas de sensibilidad (antibiogramas):
a) Difusión con discos.
b) Dilución en caldo o agar Concentración Inhibitoria Mínima (CIM).
c) Concentración Bactericida Mínima (CBM)
Pruebas indirectas de sensibilidad:
a) Detección de enzimas inactivantes (Beta lactamasas y otras)
b) Actividad antibacteriana del suero. (AAS)
c) Curvas de muerte
d) Sinergia

Se explican las pruebas más utilizadas:
• Antibiograma por difusión con discos.
• Antibiograma por dilución en medio líquido (caldo) (CIM).

Antibiograma por difusión con discos (Figura 4):
Técnica normatizada por Bauer y Kirby en 1966 (Am. J. Clin Pathol 45:493 - 496 1966).
Esta técnica ha sido y sigue siendo una de las más empleadas con fines diagnósticos en microbiología clínica. Su estandarización y la reproductibilidad de sus resultados han sido objeto de numerosas reuniones, congresos y trabajos a nivel internacional y su confiabilidad actual es el resultado de estos esfuerzos.
Exige un estricto respeto de todas las variables de la determinación:
• Bacteria única.
• Medio de cultivo (tipo y espesor).
• Densidad del inóculo.
• Temperatura y tiempo de incubación.

• Técnica de siembra.
• Carga y tamaño de los discos.
• Lectura del halo de inhibición.

Método a utilizar:

Se prepara un inóculo de la bacteria problema en un caldo de triptona soja o de Mueller - Hinton. Dicho inóculo debe tener una turbidez determinada que corresponde al 0.5 de la escala del Nefelómetro de Mc Farland (patrón de turbidez).

Se sumerge un hisopo en la suspensión bacteriana y luego se siembra en la superficie de una placa de agar de Müeller - Hinton cubriendo toda la superficie en tres sentidos. Posteriormente se colocan discos de papel de filtro impregnados con los antibacterianos (ATB) que interesan estudiar. La carga de los discos varía según los antibióticos y está en relación con la utilidad del mismo en el sitio de la infección. Se incuban las placas (37ºC, entre 18 y 24 horas). Los discos de papel liberan el ATB que contienen y difunde en todos los sentidos y a la vez se multiplican los microorganismos. Como resultado se forma un halo de inhibición del crecimiento alrededor del disco.

La amplitud del halo de inhibición está condicionada a dos situaciones:

a) Cómo se comporta la bacteria frente al ATM.
b) Cuánto difunde el ATM en medio sólido.

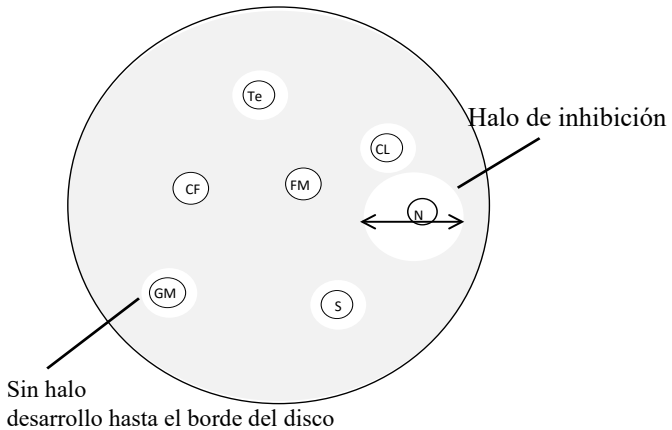
Al finalizar el tiempo de incubación se realiza la lectura midiendo los halos de inhibición (diámetro) . Estos resultados se comparan con una tabla estándar en la que ya está incluido qué tamaño deben tener los halos para cada bacteria y cada ATM para que ésta sea considerada sensible (S), moderadamente sensible (MS) o resistente (R).

Si a partir de una muestra clínica se aisla más de una bacteria se debe estudiar la sensibilidad por separado de cada una de ellas.

Los antibióticos a utilizar deben corresponder a los del patrón de sensibilidad conocido del agente, la localización de la infección, la edad del paciente, estado fisiológico (embarazo) o estados patológicos (insuficiencia renal - hepática)

Limitaciones de la técnica:

• Indicada para el estudio de bacterias de rápido crecimiento y poco exigentes en sus requerimientos nutritivos. Se puede utilizar para el estudio de sensibilidad de bacterias más exigentes empleando variantes en el medio de cultivo y atmósfera de incubación, por ej.: para Haemophilus spp. - Neisseria spp. - Streptococcus spp.
• No es útil para bacterias exigentes que crecen dificultosamente en agar de Müeller - Hinton.
• No es útil para bacterias anaerobias.



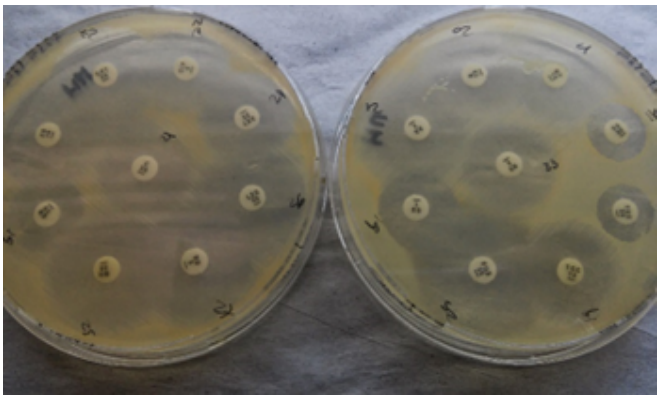


Figura 4. Antibiograma por difusión. Se observan halos de inhibición grandes, que a simple vista podríamos sospechar sensibilidad antimicrobiana. Es muy importante que la lectura e interpretación de todo antibiograma por difusión sea realizada por especialistas, quienes podrán reconocer mecanismos de resistencia ocultos, a pesar de halos que superen los puntos de corte. A charlar en clase.

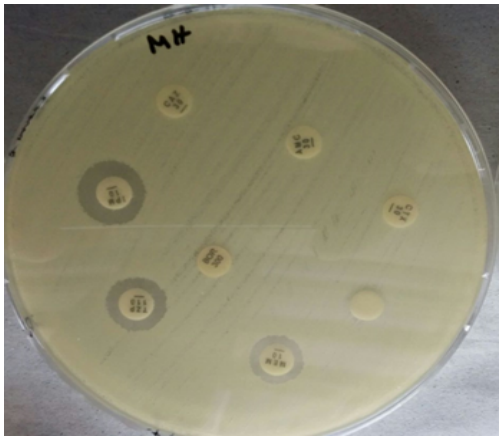


Figura 5. Antibiograma por difusión. Se observa, a simple vista, halos de inhibición pequeños que podrían corresponder a resistencia antimicrobiana. Recordar que el especialista realizará, previamente, la correcta lectura e interpretación de los mismos.

Antibiograma por dilución: Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)

Dilución en caldo.
Es un método cuantitativo que permite ajustar las dosis de antibiótico a utilizar. No es una técnica rutinaria y tiene indicaciones precisas en aquellos casos en que es necesario un esquema con un antimicrobiano exacto y bien dosificado. Algunas indicaciones son: meningitis, endocarditis, bacteriemias, osteomielitis agudas.
Se puede usar para bacterias de rápido crecimiento o no.
Los materiales a utilizar son tubos de ensayo o microplacas.
Se basa en el estudio del comportamiento de una bacteria frente a concentraciones decrecientes del ATM para determinar la mínima concentración del ATM que inhibe el crecimiento bacteriano (C.I.M.: concentración inhibitoria mínima).
Se prepara una serie de tubos que contiene el medio de cultivo: caldo de Müeller - Hinton al que se le agregan cantidades decrecientes del antibiótico y una suspensión de la bacteria "problema" (inóculo con determinado patrón de turbidez al igual que en la técnica de difusión).
Se incuban los tubos 18 - 24 horas a 37ºC y se registran las diluciones en las que hubo desarrollo bacteriano (turbidez) y en las que no hubo dicho desarrollo.
Se valora como C.I.M. el tubo con menor concentración de ATB que permanece límpido (lo que significa inhibición del crecimiento).

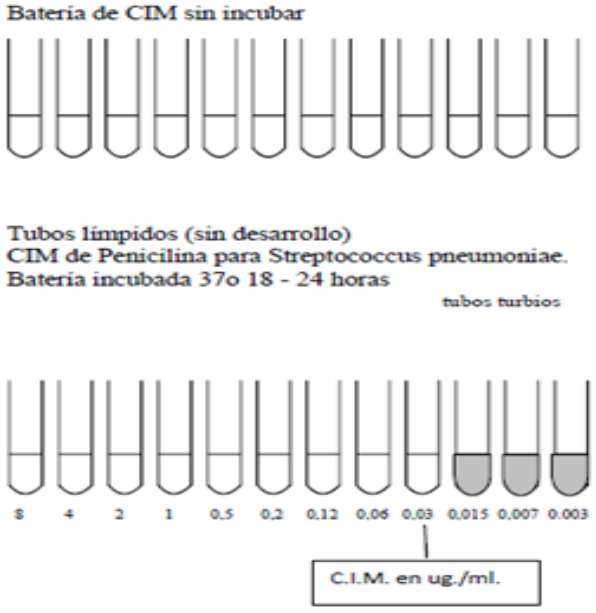


Figura 6. Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)

Ya está determinado qué valor de CIM debe tener cada bacteria para cada ATM para ser considerada sensible o resistente.
Interpretación de resultados:
Se informa de la siguiente manera: por ej.: CIM de penicilina para Streptococcus pneumoniae: 0.02 ug/ml. Esto indica el nivel que dicha droga deberá alcanzar en el suero del paciente. Luego es necesario ajustar la dosis que se administra del ATM al paciente para alcanzar esa concentración de ATM (CIM) adecuada en el sitio de la infección. En general la concentración que destruye a la bacteria está en dos diluciones por encima de la CIM .
Actualmente se utilizan sistemas automatizados para realizar la determinación de la CIM o tiras con gradientes de concentraciones de antibióticos denominados E-test o MICE. Se forma alrededor de la tira una elipse de inhibición. La CIM se lee en el punto inferior de la elipse donde el crecimiento es inhibido (Figura 7).

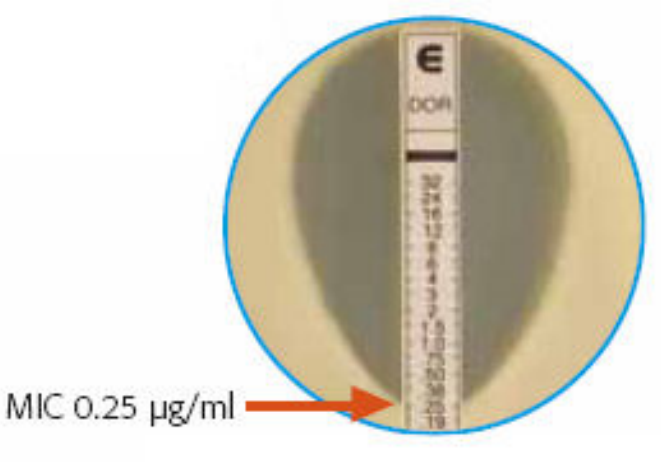


Figura 7. E-test.

Conceptos importantes:

El antibiograma por difusión y por dilución (CIM) sólo indican bacteriostasis (inhibición del crecimiento).
Cepa Sensible: la infección debida a esta cepa debe responder a una dosis normal de este antibacteriano probado.
Cepa Moderadamente Sensible: puede ser inhibida si se usan altas dosis o el antibiótico alcanza concentraciones adecuadas en el sitio de la infección, ej.: orina.
Cepa Resistente: el antibiótico no debe ser usado porque no será eficaz
ni aún aumentando las dosis.

Nuevos métodos diagnósticos

Existen actualmente en la práctica métodos utilizados para conocer la presencia de determinados microorganismos en una muestra clínica, y si ellos están presentes, también la posibilidad de poner en evidencia, a través de la biología molecular, la presencia de ciertos genes productores de resistencia a determinados antimicrobianos. Por ejemplo: en una muestra de sangre, de un hemocultivo positivo, se puede determinar la presencia de una determinada enterobacteria, como Klebsiella pneumniae y un gen de resistencia acompañante como CTX-M que se correlaciona con la producción de betalactamasas tipo BLEE.

Rol del laboratorio en la Resistencia antimicrobiana

Es muy importante contactar inmediatamente con el laboratorio de microbiología frente a la sospecha de una bacteria problemáticas, ya sea por su género, por su especie, por su patogenicidad y localización y por la probabilidad de viejos o nuevos mecanismos de resistencia, no nos olvidemos la multiresistencia antimicrobiana, problema crucial que está atravesando todas las latitudes del planeta.
El laboratorio es el encargado de:
Informar perfiles de resistencia (antibióticos)
Conocer detectar nuevos mecanismos de resistencia
Reforzar la vigilancia de la resistencia a los ATM

¿Cuáles son las bacterias problemáticas en cuanto a la resistencia antimicrobiana?

En el hospital son: Staphylococcus aureus, enterobacterias (Klebsiella spp., Enterobacter spp.), bacilos Gram negativos no fermentadores (Pseudomonas spp., Acinetobacter spp., Stenotrophomonas maltophilia) y Enterococcus spp.
En la comunidad: S. aureus, Streptococcus pneumoniae, Neisseria gonorrhoeae, M. tuberculosis.

ANTIVIRALES

Los antivirales son sustancias capaces de interferir en la replicación viral y han sido desarrollados debido a los avances en el conocimiento del ciclo replicativo de los virus. Muchos ensayos de laboratorio y pruebas clínicas han confirmado la utilidad de algunas sustancias para inhibir selectivamente alguna de las etapas de multiplicación de algunos virus. Debido a que el ciclo replicativo de los virus está íntimamente relacionado con el de la célula que infecta, es difícil afectar la replicación viral sin alterar las funciones celulares y, por esto, muchos de los fármacos antivirales presentan efectos adversos. Así mismo, la utilidad terapéutica de estas sustancias para el tratamiento de algunas infecciones virales es cada día mayor.
En forma general, el control de las infecciones virales puede realizarse por:

a) Sustancias inactivantes que actúan directamente sobre la partícula viral, en forma previa a su ingreso al huésped susceptible. Aquí se incluyen los antisépticos y desinfectantes que destruyen la capacidad infectiva de la partícula viral.

b) Sustancias antivirales que interfieren con el ciclo replicativo, evitando la formación de la progenie viral. Estas drogas afectan procesos bioquímicos esenciales para la replicación viral y constituyen las drogas antivirales propiamente dichas.

c) Inmunomoduladores: compuestos que modifican la respuesta inmune del huésped para ayudar a resolver una infección viral. Por ej: los interferones.

Los fármacos antivirales propiamente dichos actúan en distintas etapas de la replicación viral, estas son:

1. Interferencia en la adhesión viral
2. Interferencia en la penetración y desnudamiento
3. Interferencia en la traducción de las proteínas virales
4. Interferencia en la replicación del genoma viral:
   4.1 Interferencia en la replicación de virus ARN:
   4.2 Interferencia en la replicación de virus ADN:
   4.3 Inhibidores de las enzimas que intervienen en la replicación.
5. Interferencia en el ensamble de las proteínas virales:

1. Interferencia en la adhesión viral

1.1 Inmunoglobulina sérica humana:
Consiste en la administración de anticuerpos específicos para el virus que esta causando la infección. Estos anticuerpos pueden ser obtenidos del plasma de pacientes con elevadas cantidades de anticuerpos contra un virus específico. Los anticuerpos administrados ayudan a neutralizar la adhesión del virus a la superficie de la célula huésped. Por ej.: plasma de personas que se curaron de fiebre hemorrágica argentina que es administrado a pacientes que cursan dicha enfermedad.

1.2 Análogos a los receptores:
Otra opción consiste en inhibir la adhesión del virus a su receptor celular específico. Esto puede ser logrado mediante sustancias análogas al receptor celular que se administra en forma soluble para que compita con el receptor celular por la unión al virus, de esta forma el virus que se une al receptor soluble no entra en la célula y por consiguiente no lleva a cabo su ciclo de replicación. Por ej.: CD4 soluble para el tratamiento de la infección por HIV.

2. Interferencia en la penetración y desnudamiento:
En general, este es un proceso poco conocido para muchos virus y algunas enzimas celulares actúan junto a las virales para llevarlos a cabo, por esto resulta difícil interferir en esta etapa de la replicación viral sin alterar el metabolismo celular. Dos fármacos que actúan a este nivel son la Amantadina y su derivado rimantadina. Estas drogas son estructuralmente semejantes y previenen el desnudamiento viral y la liberación del genoma viral en el citoplasma a través de un bloqueo de canales iónicos de la envoltura viral. Estas dos drogas son utilizadas para la profilaxis y el tratamiento temprano de las infecciones por virus influenza A. La rimantadina aparece como la droga de elección.

3. Interferencia en la traducción de las proteínas virales
3.1 La síntesis de proteínas virales ocurre en el citoplasma de las células infectadas, en donde los ribosomas de las células hospederas son usados para producir proteínas estructurales (núcleo y cubierta o envoltura) y no estructurales (ADN/ARN polimerasas, timidinaquinasas) del virus infectante. Este paso es el blanco de acción de los interferones. Los interferones son una familia de glucoproteínas producidas por el huésped como parte de su defensa natural contra las infecciones y cumplen funciones inmunomoduladoras, antineoplásicas y antivirales. Los interferones inhiben los virus de forma indirecta por inducir la producción de enzimas intercelulares que impiden la unión del ARN mensajero viral al ribosoma y degradan el ARN de cadena doble; el ARN de doble cadena es un componente intermediario en la replicación del genoma de algunos virus. Los interferones son usados como terapia en la infecciónes por el virus de la hepatitis C.
3.2 Oligonucleótidos específicos en contrasentido ("antisense"): consisten en oligonucleótidos complementarios y en contrasentido a la secuencia del ARN mensajero viral que hibridan con este, impidiendo la expresión de proteínas virales. Este tipo de antivirales se encuentran todavía en fases experimentales.
3.3 ARN de interferencia: Recientemente Andrew Fire y Craig Mello obtuvieron el Premio Nobel de Medicina (2006) al descubrir una nueva forma para silenciar genes. Ellos observaron que el ARN de doble cadena es mucho más potente para silenciar genes que el ARN en contrasentido y denominaron al proceso interferencia de ARN . La introducción de dobles hélices de ARN en una célula y su clivaje en fragmentos pequeños hace que estos trozos silencien la expresión génica. Estos pequeños trozos se acoplan al ARNm complementario que está siendo traducido impidiendo la síntesis proteica. Este enfoque podría utilizarse en la terapia antiviral; sin embargo la introducción del ARN de doble hélice induce la síntesis de interferón antiviral en la célula. Esta situación podría resolverse utilizando ARN de doble hélice de pequeñas dimensiones (menos de 30 pares de bases) que evaden la señal que induce la respuesta de interferón, y silencian los genes virales.

4. Interferencia en la replicación del genoma viral:
La mayoría de las drogas antivirales que actúan en este nivel son análogos de los nucleósidos requeridos para la síntesis de las cadenas de ADN y/o ARN viral, es decir que estas moléculas poseen una estructura similar a los nucleósidos celulares (citosina, guanosina, adenina, y timidina). Cuando ocurre la síntesis de ácidos nucleicos virales estos análogos de los nucleósidos son incorporados a la cadena de ADN o ARN naciente y pueden actuar como terminadores de cadena; inhibiendo la elongación de la hebra de ADN o ARN. También hay otro grupo de moléculas que no son análogas a los nucleósidos pero que inhiben irreversiblemente a la polimerasa que participa en el proceso

replicativo del virus.

4.1 Interferencia en la replicación de virus ARN:

Ribavirina: es un análogo de la guanosina que tiene efecto contra algunos virus con genoma de ARN, estos incluyen al virus sincicial respiratorio, influenza A, parainfluenza, parotiditis, sarampión y virus de la fiebre Lassa.

Azidotimidina (AZT): es un análogo de la timidina. Inhibe competitivamente la transcriptasa reversa del HIV. La resistencia al AZT está asociada a la mutación del gen de la transcriptasa reversa.

Dideoxinosina (ddI) y Dideoxitidina (ddc): Son análogos de nucleósidos y actúan como inhibidores de la replicación del HIV-1. Se utilizan alternativamente o en asociación con otras drogas para el tratamiento de pacientes infectados con HIV-1.

4.2. Interferencia en la replicación de virus ADN:

- Iodoxuridina y trifluridina: son análogos de la timidina.

- Vidarabina: Es un análogo de la adenina. Fue el primer antiviral efectivo contra las infecciones por virus de la familia Herpesviridae, con mayor actividad frente a herpes simplex (HSV) y varicella-zoster (VZV). Es fosforilado a una forma activa, vidarabina trifosfato (vidarabina-TP) por quinasas celulares de manera más eficiente que por la timidina quinasa viral y, por lo tanto, es activo contra cepas de HSV con mutaciones en el gen de la timidina quinasa que son resistentes al aciclovir.

-Aciclovir: El aciclovir (ACV) es un análogo de la guanosina. Su espectro antiviral está limitado a algunos herpesvirus. Este es el primer antiviral desarrollado que se activa mediante una enzima propia de estos virus, lo que le confiere alta especificidad, siendo metabolizado selectivamente en las células infectadas por HSV. Para inhibir la síntesis de DNA viral debe ser fosforilado primero a aciclovir monofosfato (ACV-MP) por la timidina quinasa viral. Posteriormente, el ACV-MP es fosforilado a aciclovir difosfato (ACV-DP), y luego a aciclovir trifosfato (ACV-TP) por quinasas celulares. Debido a este mecanismo de acción, la cantidad de ACV-TP formado en las células infectadas es mucho mayor que en las no infectadas. Esta droga es 200 veces más afín por la timidina quinasa viral de HSV que por las quinasas celulares, y es fosforilada más rápido por la enzima viral que por las de la célula, lo que implica que la cantidad de ACV-TP producido en las células infectadas es 40-100 veces mayor que en las células normales.

- Ganciclovir: Es un análogo de la guanosina que se utiliza en infecciones por citomegalovirus (CMV). Su mecanismo de acción es similar al aciclovir.

4.3. Inhibidores de las enzimas que intervienen en la replicación:

-Foscarnet: Es una sal trisódica de ácido fosfonofórmico (no es análogo de nucleósido) que inhibe selectivamente las ADN polimerasas de los herpesvirus y virus de la hepatitis B, como también sobre la enzima transcriptasa reversa del HIV-1. El foscarnet se usa en forma tópica en el tratamiento de herpes oral y genital recurrente, por vía sistémica en enfermedades por CMV, en pacientes infectados por HIV y como alternativa en pacientes inmunocomprometidos con infecciones por HSV resistentes al aciclovir.

5. Interferencia en el ensamble de las proteínas virales: Estos fármacos son inhibidores de proteasas que durante el proceso de replicación viral cortan poli proteínas virales para formar dos o más proteínas estructurales del virus. Se utilizan en combinación con análogos de nucleósidos en el tratamiento de la infección por HIV. Algunos de estos compuestos son el idinavir y el saquinavir.

Nuevos métodos de investigación aplicados al desarrollo de antivirales

La genética permitió, luego de descifrar las secuencias de los genes en un virus dado, usar software para comparar la secuencia obtenida con las ya identificadas en otros organismos, incluidos otros virus y discernir cómo la secuencia es fragmentada en genes. Aquellas secuencias similares a genes conocidos en otros organismos son consideradas genes en los virus en estudio y por tanto deben dar lugar a proteínas similares. Los genes permiten así conocer las funciones de las proteínas correspondientes y obtener así un cuadro de los pasos por los que el virus de interés se establece y prospera en el cuerpo de su huésped. A su vez se puede saber qué proteínas y que fragmentos de ellas pueden ser mas afectadas y cuales de ellas pueden provocar mayores afectaciones al virus. Otro aspecto que se tiene en cuenta es

que la parte que se va a afectar tenga las menores similitudes con las de los humanos, evitando así efectos secundarios intolerables. Estos fragmentos también deben estar presentes en la mayor cantidad de cepas del virus de forma que la terapia sea efectiva en la mayoría de las cepas del virus. Luego de identificados los "blancos" virales se alistan técnicas para hallar productos capaces de perturbar el virus. Para esto se usan métodos de ingeniería genética. Alternativamente se analiza la estructura tridimensional del dominio de la proteína con el objetivo de diseñar productos que se unan con fuerza a esa región o que inhiban el sitio activo de una enzima crucial para la reproducción del virus. Estos métodos novedosos pueden también combinarse con los viejos métodos de tamizaje para desarrollar productos capaces de atacar a los virus en todas las etapas de su ciclo de vida.

Bibliografía

• Bauer A W, Kirby W M M, Sherris J C & Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Amer. I. Clin. Pathol. 1966:45:493-6.

• Moreno, C et al. Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello. 2009: v. 69 n.2.Santiago, Chile.

COMPUESTOS ANTIVIRALES COMERCIALMENTE DISPONIBLES

Tipo de Compuesto	Compuesto	Droga	Actividad antiviral	Virus blanco
Anticuerpos	Ac.monoclonal humanizado	Palivizumab	Neutraliza la adsorción viral	RSV
Receptores Solubles	CD4-soluble	CD4-soluble	Receptor soluble competitivo	HIV
Péptidos modificados	Péptido derivado gP41	T-20	Inhibidor Quimioquina (Fusina)	HIV
Inhibidores enzimáticos análogos de nucleósidos	Análogo guanosina	Aciclovir	Inhibidor enzimático	HSV, VVZ
			Terminador de cadena	
	Análogo guanosina			CMV
		Ganciclovir	Inhibidor enzimático	
	Análogo Timidita			HSV
		Iododeoxiuridina	Inhibidor enzimático	
	Análogo Timidita		Terminador de cadena	HIV
		Azidotimidina	Inhibidor enzimático	
	Análogo Timidita		Terminador de cadena	HIV,HCV
		Lamivudina	Inhibidor enzimático	
	Análogo Inosina		Terminador de cadena	HIV
	Análogo Citosina	Dideoxiinosina	Inhibidor enzimático	HIV
	Análogo Timidina	Dideoxicitidina	Inhibidor enzimático	HIV
	Análogo guanosina	Stavudina	Inhibidor enzimático	RSV
	Análogo adenina	Rivabirina	Inhibidor enzimático	HSV,VVZ
		Vidarabina	Inhibidor enzimático	
Inhibidores enzimáticos no análogos	Sal trisódica	Foscarnet	Inhibidor pirofosfato	CMV, HBV, HIV, HSV
				HIV
	Benzodizepinico	Nevirapina	Inhibidor enzimático	
				HIV
	Derivado de TIBO	Efavirenz	Inhibidor enzimático	
				Influenza
	Análogo ácido siálico (gangliósido)	Oseltamivir	Inhibidor enzimático	
	Péptido mimético (análogo de proteasa)			HIV
		Saquinavir	Inhibidores enzimáticos	
		Indinavir		
		Ritonavir		
Compuestos Químicos	Isoxazoles	WIN 71711 (pleconaril y disoxaril)	Estabilizador de péptido viral	Picornavirus
		WIN V1	Estabilizador de péptido viral	Rinovirus
			Estabilizador de péptido viral	I
		Amantadita		nfluenza
	Amina primaria tricíclica	Rimantadina		
ARN antisentido	ARN	No disponible	Bloqueo de la transcripción y traducción	HIV

Capítulo 11
Infecciones bucodentales

En nuestro tiempo una sonrisa bonita, además de un valor estético, sigue siendo un síntoma de salud global y un pasaporte a una mejor calidad de vida.

Microbiota oral: Comunidades microbianas

La complejidad de la microbiota oral reside en el concepto de comunidades microbianas. El comprender la composición de las comunidades microbianas orales durante la salud nos permite avanzar en el estudio de la microbiología de la boca, puerta de entrada del tracto gastrointestinal así como del tracto respiratorio.

La microbiota en la mucosa oral es polimicrobiana y forma un biofilm en las superficies dentarias, prótesis y mucosa oral. En la microbiota oral existen alrededor de 750 especies bacterianas reconocidas. Es también probable que la mayoría de los individuos de esta comunidad no puedan sobrevivir fuera de ella, habida cuenta de su interdependencia metabólica. Esto además explicaría la imposibilidad del cultivo de gran parte de estas bacterias: se estima que el 50% de los microorganismos que componen este biofilm son no cultivables. De algún modo es también prematuro señalar a las pocas bacterias cultivables como causales de diferentes procesos infecciosos.

La comunidad microbiana oral forma un biofilm en las superficies mucosas humedecidas por la saliva. Los biofilms son comunidades organizadas de microorganismos que se multiplican sobre soportes sólidos cuyos fenotipos son diferentes a los de cada bacteria considerada en forma individual. De este modo existe una respuesta adaptativa, en la que cada bacteria presenta una plasticidad metabólica que le permite a la comunidad maximizar su potencial e incrementar el número de microorganismos presentes en este biofilm. En esta interacción, las bacterias “estudian” la superficie a la que están adheridas así como la identidad de sus “congéneres vecinas “y modifican la expresión de sus proteínas, modificando la regulación de genes específicos, lo que les permite tanto reproducirse como adherirse con otros microorganismos diferentes.

En la construcción de una comunidad existen bacterias “pioneras”, que son las primeras en unirse a los receptores celulares. La adhesión inicial es la unión de las bacterias a los componentes de la saliva, adsorbidos en la mucosa oral. La composición de estos componentes, receptores de saliva como los criptitopes, adquiere su configuración luego de la unión a la superficie mucosa. Entre las bacterias pioneras están las especies del género Streptococcus. Otras colonizadoras tempranas son Actinomyces spp., Veillonella spp. y Neisseria spp.

Un día en la vida de una comunidad microbiana: la placa bacteriana

La placa bacteriana contiene cientos de microorganismos en una matriz de moléculas provenientes de la saliva y de productos bacterianos extracelulares.

La superficie dentaria luego de la limpieza oral es rápidamente cubierta por la película salival y luego por bacterias colonizantes como Streptococcus spp. y Actinomyces spp. (Figura 1). Estos microorganismos proveen un film para la adhesión y acumulación de otras bacterias como Veillonella spp. y nuevamente Actinomyces spp.. Un medio particular favorece, ahora, la retención de Porphyromonas spp. en asociación con estreptococos (Figura 2). Las condiciones anaeróbicas que se han establecido, permiten luego la incorporación de Fusobacterium spp., quien interactúa con las otras células bacterianas. De hecho que la incorporación de Fusobacterium spp. y Porphyromonas spp. favorecen, probablemente, la multiplicación de Treponema spp. (Figura 3). Así también la inclusión de Candida albicans en la comunidad de la placa subgingival.

Si la placa es removida durante el cepillado dental, el ciclo comienza nuevamente. Sin embargo una parte de los microorganismos no puede ser removida y una diseminación sistémica y de importancia en enfermedades cardiovasculares, por ejemplo: si la placa no es removida, en los días subsiguientes sufre modificaciones cualitativas y cuantitativas

Es por esto más allá de la capacidad patogénica de las diferentes especies individuales, pensar en infección oral es hacerlo en términos de comunidades.

Caries y enfermedad periodontal

La buena higiene oral es esencial tanto para prevenir como para tratar la enfermedad periodontal. La mala higiene oral incrementa entre 2 a 10 veces el número de microorganismos presentes.

La caries dental es un proceso infeccioso que provoca una desmineralización localizada de la estructura inorgánica del diente, seguida de la desintegración de los componentes orgánicos por acumulo de ácidos provenientes del biofilm bacteriano. La caries dental puede avanzar y los microorganismos producir una infección pulpar. La caries dental es una enfermedad infecciosa y transmisible, en la cual interactúan diferentes factores del hospedero (tanto genéticos como de comportamiento) y del medio. Los microorganismos implicados pertenecen al grupo de Streptococcus viridans, en particular las especies Streptococcus mutans y Streptococcus sobrinus. Las lesiones de caries dentales contienen además lactobacilos, Actinomyces spp, Prevotella spp y ocasionalmente Candida spp. Los factores de virulencia de Streptococcus mutans le confieren la capacidad de adherirse. Esta adhesión se torna más estable en presencia de sacarosa. Estas bacterias que se multiplican en el biofilm poseen un mecanismo de "quorum sensing", esto es, regulan la expresión de sus ácidos nucleicos y la síntesis de proteínas y factores de virulencia, según las señales que las bacterias de otras especies le proveen. Es probable que una de las fuentes de infección del niño sea la madre infectada con S. mutans y/o sobrinus, aún cuando se ha demostrado transmisión horizontal con otros miembros de la familia. Luego de la colonización inicial, el sitio reservorio podría ser el dorso de la lengua. Se ha demostrado una proporción mayor de Streptococcus mutans en individuos con caries activa.

La gingivitis es una inflamación de la encía, como consecuencia del desarrollo bacteriano. Esta inflamación no afecta la sujeción de los dientes. En la gingivitis se observa sangrado, edema, ablandamiento de los tejidos y coloración roja de la encía. El epitelio sigue unido a la superficie del diente y no hay pérdida del ligamento periodontal ni del hueso alveolar. La gingivitis puede o no ser precursora de la periodontitis. Casi todos los adultos experimentan gingivitis y algún grado de periodontitis.

La periodontitis implica la destrucción de la sujeción del tejido conectivo y el hueso alveolar subyacente. En la periodontitis hay inflamación gingival, formación de bolsas periodontales y pérdida de hueso alveolar de soporte. También puede aparecer movilidad dentaria y supuración. La enfermedad periodontal está particularmente asociada a anaerobios presentes en el biofilm, tales como Porphyromonas gingivalis, Bacteroides forsythus y Aggregatibacter actinomycetemcomitans.

Finalmente un factor del huésped a considerar es la saliva. La saliva juego un papel importante en mantener la integridad de las estructuras orales y en el control de la infección oral. Esto lo realiza diluyendo y eliminando azúcares, utilizando su capacidad de amortiguación de la acidez, ejerciendo la actividad antimicrobiana y regulando la desmineralización y mineralización en las superficies dentarias.

Enfermedades sistémicas producidas por infecciones orales

La cavidad oral puede ser el sitio de origen de una enfermedad sistémica a través de la diseminación al torrente sanguíneo tanto de microorganismos como de sus toxinas, así como también la difusión de mediadores químicos de la respuesta inmune.

Los procesos que se desarrollan a distancia están vinculados a la multiplicación de la bacteria en un sitio alejado de la cavidad oral. Tal es el caso de las bacteriemias y la posterior colonización en otros sitios del organismos como el endocardio cardíaco.

Sin embargo también estos biofilm bacterianos actúan como sitios inflamatorios con producción de toxinas bacterianas y de citoquinas por el huésped, que pueden tener importancia en estados hipercoagulables y de ateroesclerosis.

Procesos infecciosos a distancia

Las infecciones orales y los procedimientos odontológicos causan bacteriemia transitoria. La proporción de individuos que tiene bacteriemia así como los microorganismos que llegan a sangre dependen de la higiene oral del individuo. En términos generales una proporción cercana al 20% hace una bacteriemia transitoria luego de un procedimiento de endodoncia. Minutos después de una extracción dental, el 55 a 100% de los pacientes presenta bacteriemia transitoria. En general estas bacteriemias son limitadas por la respuesta inmune.

La endocarditis infecciosa es la infección bacteriana de las válvulas y del endotelio cardíaco. Durante una bacteriemia los microorganismos pueden infectar este endotelio, en particular en los pacientes con patologías valvulares o enfermedades cardíacas y producir esta enfermedad

La neumonía bacteriana, la infección del parénquima

pulmonar, tiene con frecuencia el origen en la microbiota oral, por las aspiraciones de los fluidos biológicos de esta cavidad durante el sueño. Patógenos como Streptococcus pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae y Haemophilus influenzae son considerados como microbiota transitoria de la orofaringe y pueden ser broncoaspirados y alcanzar el tracto respiratorio inferior. Así también otros pertenecientes a la microbiota normal tales como Porphyromonas gingivalis, Aggregatibacter actinomycetemcomitans y Fusobacterium spp.

Procesos inflamatorios a distancia

La periodontitis afecta la susceptibilidad del hospedero a las enfermedades sistémicas por diferentes vías. Varios factores de riesgo para periodontitis también lo son para patologías cardiovasculares (tabaco, stress, entre otros). Lo que es más, este biofilm es considerado un sitio de alta producción y reservorio de toxinas bacterianas; entre ellas el lipopolisacárido (LPS) proveniente de las bacterias Gram negativas. Estas toxinas circulan como antígenos solubles por el torrente sanguíneo, con diferentes efectos. El LPS induce una importante respuesta vascular con inflamación e infiltrado inflamatorio en el endotelio vascular, proliferación del músculo liso y coagulación intravascular. El LPS aumenta en el endotelio la expresión de moléculas de adhesión celular y la secreción de interleuquina 1, el factor de necrosis tumoral y tromboxanos; que resultan en agregación y adhesión plaquetaria así como depósitos de colesterol. El periodontio también puede pensarse como un sitio de reservorio de citoquinas (TNF alfa, IL 1 e interferón gamma), las que podrían acceder a la circulación general e inducir y/o perpetuar estos estados hipercoagulables.

Otro proceso, la halitosis se origina a partir del biofilm que recubre el dorso lingual, las bolsas periodontales y el surco gingival

Transferencia de genes entre bacterias del biofilm

Recientemente se ha demostrado que las bacterias presentes en el biofilm pueden ser transformadas con ADN exógeno. En particular esta capacidad de transformarse ha sido observada en Streptococcus mutans. En otras especies, como en P.gingivalis se ha documentado la presencia de transposones y secuencias de inserción. Todo lo dicho refiere el potencial que estas bacterias tienen para la transferencia de genes, entre ellos genes de resistencia. Lo que es más este proceso además de observarse entre las bacterias del biofilm, se observa con aquellas que de un modo transitorio se encuentran en sus "proximidades". Quizás esto podría explicar la aparición de resistencia en cepas de Streptococcus pneumoniae, entre otras.

Figura 1

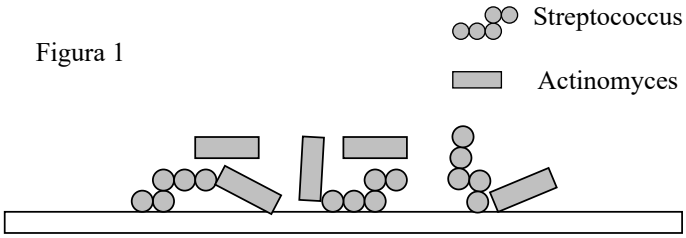


Figura 2

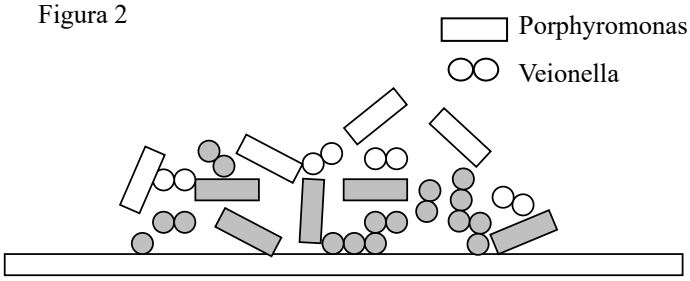
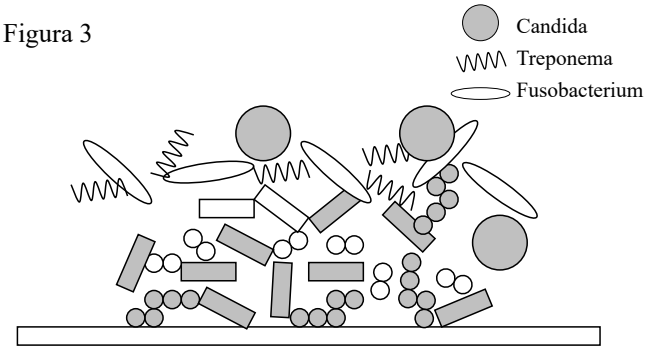
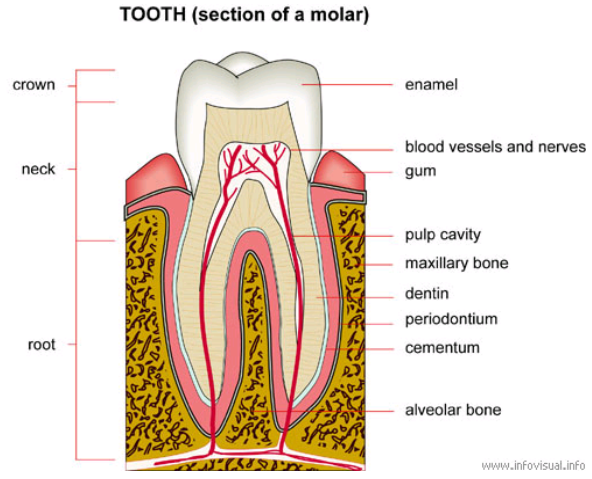


Figura 3



(De Trends in Microbiology 13: 589-595. Oral Microbial Communities in sickness and in health. Jenkinson HF, Lamont RJ).



Ligamento periodontal

MICROBIOLOGIA REFLEXIVA

una mirada hacia la complejidad de los fenómenos biológicos, que ayuda a crear caminos para entender con más profundidad la interacción virus o bacteria y célula.

COMUNIDADES MICROBIANAS
Diversidad microbiana

En la naturaleza, entre los diferentes grupos de bacterias existe una gran variedad de interacciones físicas y metabólicas necesarias para la adhesión, crecimiento y supervivencia. Estos conglomerados de microorganismos se denominan comunidades microbianas y generalmente se encuentran adheridas a una superficie. Han sido descriptas en diferentes hábitats: desde ambientes acuáticos, suelo, dispositivos médicos de implantes, sistemas de filtración, hasta el tracto digestivo de humanos y animales.

El conocimiento de cómo están constituidas las comunidades microbianas en estado de salud, constituye un punto muy importante en el estudio de la microbiología clínica. Los nuevos enfoques para comprender conceptos como colonización y enfermedad deben asumir la existencia y funcionamiento de estas complejas comunidades.

Hasta hace muy poco, el estudio de las relaciones entre las bacterias y el hospedero consideraba cada especie en forma aislada. Sin embargo, hoy se sabe que los microorganismos de los diferentes nichos ecológicos forman comunidades complejas y que la transición de salud a enfermedad depende de la interacción entre el hospedero y la comunidad microbiana como tal.

Asimismo, aún cuando en general reconocemos a las bacterias individuales como potencialmente patógenas y susceptibles de ser atacadas de esta manera por nuestro sistema inmune, el concepto debería extenderse al de una “comunidad microbiana patógena”.

Los recientes avances proporcionados por técnicas moleculares han confirmado la noción de que la mayoría de los ecosistemas microbianos contienen grandes números de especies bacterianas que no han podido ser aisladas aún. Además, se están desarrollando nuevas técnicas para estudiar en forma adecuada dichas comunidades, como la metagenómica, y el empleo de chips de DNA para estudiar la expresión de genes dentro de poblaciones microbianas.

Comunicación entre bacterias

Uno de los paradigmas más grandes de la microbiología es la concepción de la existencia de las bacterias como seres asociales. Recientes descubrimientos han demostrado que las bacterias se comunican entre sí. Aún cuando este fenómeno se conoce desde los años 60´ se ha logrado estudiar en detalle desde hace pocos años con el aporte de alguna de las técnicas mencionadas.

Esto ha determinado un cambio en la percepción acerca de microorganismos aislados que habitaban el medio por el concepto de miembros activos de una comunidad.

Existen diferentes formas de comunicarse con las demás bacterias. Una de ellas consiste en la producción y liberación de señales químicas o autoinductores al medio circundante; luego, las bacterias poseen la capacidad de medir o detectar el número de estas moléculas dentro de una población, y de liberar más sustancias a modo de respuesta. Este mecanismo recibe el nombre de “quorum sensing”, y fue descripto en 1994 para describir un fenómeno dependiente de densidad celular. Estas señales pueden ser transmitidas entre bacterias de la misma clase, pero también a otras no relacionadas (sería una especie de “idioma universal”).

Las bacterias poseen receptores que detectan estas moléculas en forma específica, y al ser inducidos, activan la transcripción de ciertos genes que codifican proteínas para diversos procesos.

El propósito del quorum sensing es coordinar ciertas acciones al estimar la densidad de población microbiana suficiente para causar daño en el huésped.
Este mecanismo está ampliamente extendido en el mundo microbiano, y entre los patógenos humanos que lo utilizan se encuentra P. aeruginosa, patógeno oportunista por excelencia.

Relacionando este enfoque cooperativo con los obje-

tivos del diagnóstico microbiológico, podemos inferir que más que desarrollar estrategias para eliminar a los componentes individuales de una comunidad, podría ser interesante hallar el modo de "manipularla" globalmente para prevenir el desarrollo de su potencial patógeno.

Biopelículas (Biofilmes)

Una adaptación especial que facilita el proceso de colonización es la capacidad de algunas bacterias de formar un biofilm.

Se denomina biofilm o biopelícula a aquella comunidad estructurada de células bacterianas encerradas en una matriz polimérica producida por ellas mismas que tiene la capacidad de adherirse a superficies vivas o inertes. Ejemplos de biofilm son la placa dental, el biofilm que se forma sobre la superficie de catéteres intravasculares, etc.

Esta estructura, también denominada glicocálix, forma un complejo en el que la disposición espacial de las células bacterianas, poros y canales de agua permite el acceso de nutrientes; además sirve como protección a sus integrantes contra anticuerpos, células del sistema inmunológico y antibióticos.

La estructura de los biofilmes ha sido estudiada por diversas técnicas microscópicas; sin embargo, la microscopía láser confocal es la que proporciona las imágenes más genuinas.

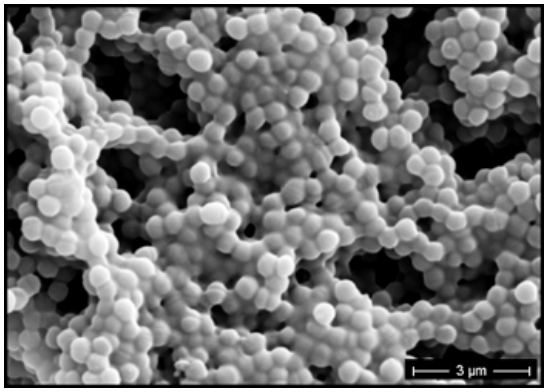


Foto de microscopía electrónica que muestra un biofilm de S. epidermidis. Dunne, Michael. Bacterial Adhesion: seen any good biofilms lately? Clin Micr Rev 2002; 15: 155-166.

El comportamiento de las bacterias que integran un biofilm (células sésiles) es totalmente distinto al de aquellas que existen en forma planctónica (no adheridas), aún cuando éstas se encuentren formando comunidades microbianas

La regulación del proceso de producción, maduración y desintegración del biofilm se lleva a cabo mediante el mecanismo de quorum sensing.

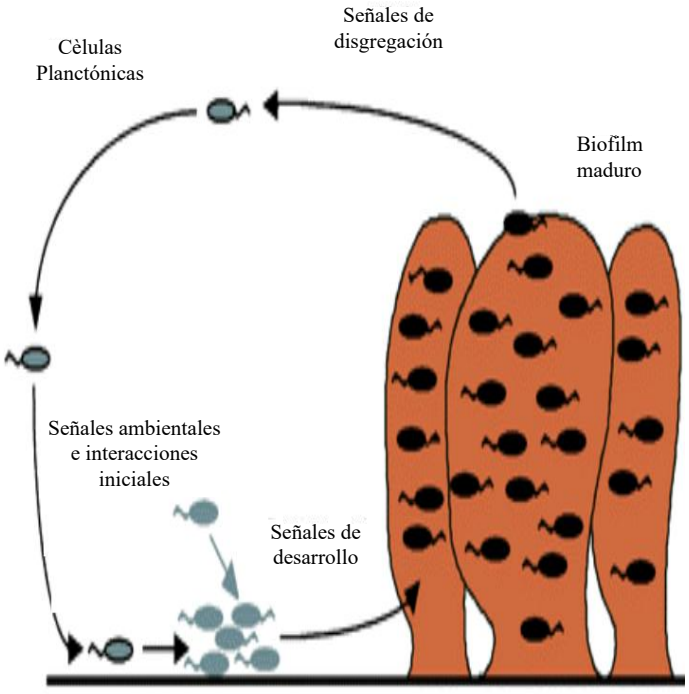


Fig. 9 Modelo de formación de biopelículas (O'Toole *et al.* 2000).

terias, seres unicelulares, al actuar en conjunto dentro del biofilm lograrían comportarse de modo similar a los organismos multicelulares.

Las bacterias capaces de formar biofilmes que han sido más estudiadas hasta ahora son P.aeruginosa y S. epidermidis; sin embargo, muchas otras también poseen dicha capacidad.

El conocimiento de este fenómeno es de gran interés para la medicina actual, ya que los dispositivos protésicos implantables son frecuentemente utilizados en pacientes con fines terapéuticos o incluso estéticos, y pueden dar origen a una infección, al proveer el soporte necesario para el desarrollo de un biofilm. Algunos ejemplos de dispositivos muy utilizados son: prótesis de cadera, prótesis valvulares, válvulas de drenaje de LCR, catéteres, sondas vesicales, prótesis mamarias, marcapasos, prótesis de titanio.

Infecciones agudas versus infecciones crónicas o persistentes: una cuestión estratégica

Los biofilmes son comunidades microbianas que ten-

drían relación con la persistencia y establecimiento de infecciones crónicas. La infección pulmonar crónica por P. aeruginosa constituye el ejemplo más común. Es así que los pacientes que padecen esta enfermedad presentan infecciones recidivantes producidas por esta bacteria en sus vías respiratorias bajas, que además se caracteriza por presentar resistencia a múltiples antibióticos.

Varios estudios demuestran que ciertas bacterias que potencialmente pueden causar infecciones agudas o crónicas podrían elegir la estrategia a utilizar, causando infección aguda y rápida diseminación en el hospedero, o alternativamente, formar un biofilm y producir una infección crónica. Esto estaría determinado por el mecanismo de "quorum sensing", si bien podrían contribuir además otros factores como el estado inmune, la integridad de los tejidos o el estado nutricional del hospedero.
Se está estudiando a nivel molecular cómo S. aureus y P. aeruginosa podrían regular las funciones relacionadas con la producción de infecciones agudas y crónicas. Algunos estudios han demostrado que los genes que codifican para toxinas, proteasas y otros factores de virulencia en dichas bacterias se expresan más en células planctónicas que en células integradas en un biofilm, y a la inversa, se expresan muchas menos toxinas en células de un biofilm que en las células planctónicas.

En síntesis, podríamos concluir diciendo que las infecciones crónicas se asemejan a lo que sucede en un biofilm, mientras que las infecciones agudas tienen más semejanza al desarrollo microbiano de tipo planctónico. Estas investigaciones resultan apasionantes para la comprensión de la patogénesis de las infecciones microbianas, sin embargo, falta mucho camino por recorrer, ya que no existen aún estrategias terapéuticas basadas en estas teorías

Bibliografía

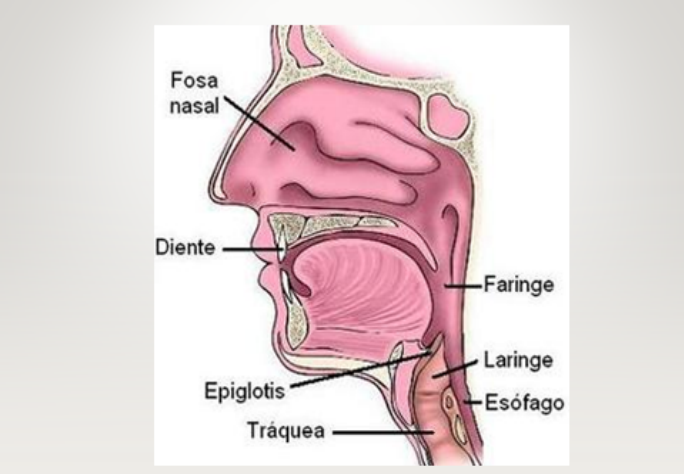
• Jenkinson HF, Lamont RJ. Oral Microbial Communities in sickness and in health. Trends in Microbiology. 1997: 13: 589-595.
• Negroni, M. 2009. Microbiología Estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. 2º Ed.

Capítulo 12
Infecciones respiratorias altas

Introducción

Las infecciones del tracto respiratorio superior son una de las causas más frecuentes de consulta médica. Tienen un fuerte impacto socio económico en la población porque disminuyen la productividad y causan elevada deserción escolar.

La vía aérea superior abarca las fosas nasales, la faringe en sus tres porciones (naso-faringe, orofaringe e hipofaringe), la epiglotis, la laringe, los senos paranasales y el oído medio. Estos últimos (senos paranasales y oído medio) son estériles, el resto de las vías aéreas superiores presentan microbiota habitual, lo que hace difícil el diagnóstico etiológico.



La microbiota de las fosas nasales está en relación directa con la microbiota de la piel, siendo por ello, Staphylococcus spp. el género predominante. Existe en esta zona un alto índice de portación de Staphylococcus aureus en el personal de salud.

La faringe, en sus tres porciones, posee microbiota aerobia y anaerobia en una relación de 1/10. Los géneros predominantes son: Streptococcus spp., cuyos representantes pertenecen al grupo viridans; Neisseria spp., Corynebacterium spp., Borrelia spp., Fusobacterium spp., Porphiromonas spp., Prevotella spp.; Bacteroides spp., Veillonella spp., entre otros. En la boca, particularmente, la microbiota anaerobia es muy abundante, y se hace predominante cuanto más nos profundizamos en los pliegues de la mucosa oral, representada por Peptococcus spp., Peptoestreptococcus spp., Fusobacterium spp. y Treponema spp.

Existen también en esta zona bacterias potencialmente patógenas que constituyen la microbiota transitoria de la orofaringe. Un porcentaje de la población es portadora sana de estos microorganismos. Las bacterias que se encuentran en faringe en estado de portación son: Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae y Neisseria meningitidis. Estos agentes son causa frecuente de infecciones en la vía aérea superior o en el sistema nervioso central (Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae y Neisseria meningitidis).

El diagnóstico microbiológico de las infecciones de las vías aéreas superiores adquiere importancia en las infecciones de origen bacteriano para un adecuado tratamiento con un manejo correcto de antimicrobianos, el control de foco y el estado de portación, y finalmente, para evitar complicaciones más graves en el paciente como ocurre con las complicaciones pos estreptocócicas de Streptococcus pyogenes.

Fisiopatogenia

El hombre entra en contacto con los microorganismos muchas veces durante el día, sin embargo, el desarrollo de una infección después de esos contactos tiende a ser la excepción y no la regla. Esto es porque el éxito de un microorganismo para producir infección no depende solo de su patogenicidad sino de la capacidad del hospedador para prevenirla. Entre los factores del agente se destacan:

·Adherencia: para causar enfermedad cualquier agente debe establecerse con firmeza en la superficie mucosa, colonizar, para poder luego multiplicarse y causar síntomas. Esto lo pueden hacer los microorganismos utilizando diferentes elementos, sustancias o estructuras que se constituyen como factores de virulencia. Son ejemplo de éstos: el ácido lipoteicoico de la pared celular de las bacterias Gram positivas, la proteína M de Streptococcus pyogenes, o las hemaglutininas utilizadas por los virus Influenza y Parainfluenza.

· Enzimas extracelulares: mediante estos productos las bacterias lesionan células y tejidos logrando de esta forma, diseminarse con rapidez: hialuronidasas, colagenasas.

· Evasión de la Respuesta Inmune: la presencia de estructuras de algunas bacterias hace imposible la fagocitosis: la cápsula es una de estas estructuras.

Por otro lado, el hospedador ofrece como factores de resistencia a la instalación de la infección los vellos

nasales, los cornetes nasales y su membrana mucosa con el calentamiento del aire al ingresar, la Inmunoglobulina A (IgA) secretora, sustancias antibacterianas inespecíficas como las lizosimas presentes en las secreciones respiratorias, la tos y los estornudos, y la presencia de la microbiota normal que impiden o facilitan la instalación de un agente en esta área. La vacunación es uno de los motivos por el cual han disminuido las infecciones por Haemophilus influenzae y Streptococcus pneumoniae en la última década.

Cuadros clínicos

De acuerdo a la localización (sitios anatómicos afectados) de la infección los cuadros clínicos son:

Localización	Cuadros Clínicos
Fosas nasales	Rinitis
Faringe y Amígdalas	Faringoamigdalitis (angina)
Senos paranasales	Sinusitis
Laringe	Laringitis
Epiglotis	Epiglotitis
Oído externo y medio	Otitis

La interpretación de los resultados del diagnóstico microbiológico es sencilla si la muestra proviene de áreas normalmente estériles (oído medio, senos paranasales), pero es dificultosa si se trata de materiales obtenidos a partir de zonas normalmente coloniza-das (orofaringe, nasofaringe, hipofaringe).

Rinitis

Epidemiología

Es un cuadro producido por virus ampliamente distribuidos en el mundo. Estos cuadros se producen en los meses más fríos del año en las áreas templadas y en los meses más húmedos, en las zonas tropicales. Entre las variables consideradas para explicar las fluctuaciones estacionales están la proximidad de los niños durante el período escolar y la influencia de la humedad en la supervivencia de los virus en el ambiente por más tiempo. Los mecanismos de transmisión considerados incluyen: contacto directo con las secreciones sobre la piel o las superficies del medio, partículas grandes de secreciones transportadas por el aire, gotas de secreciones más pequeñas (gotitas de Phlügge) que quedan suspendidas en el aire.

Fisiopatogenia

Son infecciones de corta duración y autolimitadas. Los virus del resfrío común normal-mente no se encuentran en la mucosa de las personas asintomáticas, aunque a veces se producen infecciones subclínicas y la portación viral puede ser algo prolongada en los niños. Estos virus pueden producir alteraciones de la microbiota normal y causar, en consecuencia, una infección bacteriana secundaria. Esto lleva al compromiso de zonas próximas, normalmente estériles, como oído medio o senos paranasales.

Clínica

El período de incubación es de 12 a 72 horas. Los síntomas pueden ser: secreción y obstrucción nasal, estornudos, odinofagia o sensación de carraspera y tos. La duración media es de una semana.

Agentes etiológicos

Rinovirus
Coronavirus
Adenovirus
Virus Coxsackie
Virus Parainfluenza
Virus Respiratorio Sincitial

Diagnóstico virológico

El diagnóstico para estos agentes puede ser realizado en cultivos celulares o por inmunodiagnóstico directamente sobre la muestra clínica (IFD, ELISA), pero solo se justifica hacerlo con fines epidemiológicos.

Faringoamigdalitis (Angina).

La faringitis aguda es un síndrome inflamatorio de la faringe que puede ser causado por diferentes microorganismos, es uno de los motivos más frecuentes de consulta y de prescripción de antibióticos en las consultas de atención primaria. En la mayoría de los casos (90%) es de etiología viral y ocurre como parte de los síntomas del resfrío común y de la gripe.

De las faringitis de origen bacteriano la más importante es la producida por Streptococcus pyogenes.

Es importante diferenciar la angina de etiología viral de la bacteriana ya que ésta tiene una buena respuesta al tratamiento con penicilina.

En general podemos decir que mientras la angina de origen bacteriano es de inicio brusco acompañada de una odinofagia intensa con decaimiento general y fiebre alta, la de origen viral es de inicio lento, insidioso con síntomas que van instalándose lentamente con el correr de los días, con una odinofagia moderada, sin

formación de placas y con síntomas asociados como lagrimeo o secreción nasal.
La falta de un tratamiento adecuado de la angina estreptocócica puede llevar al paciente a complicaciones más severas conocidas como enfermedades pos estreptocócicas: Fiebre Reumática y Glomerulonefritis Difusa Aguda.

Agentes etiológicos

Virus	Bacterias
Virus Parainfluenza	Streptococcus pyogenes
Adenovirus	Asociación fusoespirilar
Virus Herpes Simplex	Corynebacterium diphtheriae
Virus Epstein-Barr	Arcanobac. haemolyticum
Virus Coxsackie "A"	Neisseria gonorrhoeae

Clasificación según las características de la angina

No Exudativas	Virus Parainfluenza Neisseria gonorrhoeae
Exudativas	Adenovirus Virus de Epstein-Barr Streptococcus pyogenes
Pseudomembranosa	Corynebacterium diphtheriae
Úlcero-necróticas	Fusobacterium necrophorum Borrelia vincentii
Úlcero-vesiculares	Virus Herpes simple Virus Coxsackie Treponema pallidum

Causas bacterianas
Streptococcus pyogenes es la principal causa de faringoamigdalitis de origen bacteria-no. Esta bacteria se encuentra como microbiota transitoria en un 5 a 10% de los individuos sanos, siendo ésta, la forma que tiene el microorganismo de persistir en la naturaleza. Los individuos sanos se transforman en portadores de la bacteria, la que puede pasar a otro individuo a través de las gotitas de Phlügge.
El cuadro que produce se denomina angina eritematopultácea donde, a la congestión y al edema que se observa, se le agregan la aparición de lesiones exudativas denomi-nadas placas, de color blanco amarillento como resultado de la presencia de microor-ganismos y reacción inflamatoria. Se presenta en forma brusca, con fiebre elevada, escalofríos y con intenso dolor de garganta. Puede acompañarse con adenopatía regional.

Faringoamigdalitis estreptocócica

La falta de un diagnóstico y un tratamiento adecuado puede llevar a complicaciones como Fiebre Reumática, llamada también, Reumatismo Poliarticular Agudo. Es una enfermedad que se caracteriza por lesiones inflamatorias no supurativas que involucran sobre todo al corazón, las articulaciones, los tejidos subcutáneos y el sistema nervioso central. Se presenta como un trastorno agudo, febril y autolimitado. Sin embargo, puede dañar las válvulas cardíacas en forma crónica y progresiva conduciendo a una insuficiencia cardíaca severa, invalidez e incluso la muerte. Los mecanismos exactos que explican la fisiopatogenia de esta enfermedad no están totalmente aclarados, si bien se manejan diferentes hipótesis:
· el daño tisular es causado por productos elaborados por los estreptococos como estreptolisinas (enzimas) S (de superficie u oxígeno estable) u O (de profundidad u oxígeno lábil).
· se produciría una reacción tipo enfermedad del suero mediada por complejos antígeno anticuerpo que se localizarían en los sitios de lesión.
· fenómenos autoinmunes inducidos por similitud de ciertos antígenos del estreptococo con una amplia variedad de antígenos del tejido humano.
El diagnóstico de fiebre reumática es clínico, pero se deben hallar datos que indiquen infección estreptocócica previa, tales como determinación de anticuerpos contra antí-genos estreptocócicos: AELO (antiestreptolisina O).
La Glomerulonefritis Difusa Aguda es otra enfermedad autoinmune pos estreptococia. Los anticuerpos

frente a componentes estreptocócicos se combinan con éstos para formar inmunocomplejos circulantes que se depositan en los glomérulos.

Es importante resaltar que las cepas de S. pyogenes que producen Fiebre Reumática (cepas reumatógenas) casi siempre provienen de la faringe, en cambio, las cepas pro-ductoras de Glomerulonefritis Difusa Aguda (cepas nefritógenas) provienen de la piel.

Fusobacterium necrophorum y Borrelia vincentii: agentes causales de la Angina de Vincent o también llamada Asociación Fusoespirilar, es una verdadera disbacteriosis, por cuanto es consecuencia de una alteración de la microbiota de la boca.

La microbiota anaerobia de la boca, debido a la falta de una buena higiene bucal o a enfermedades de base como Mononucleosis Infecciosa, producida por el virus Epstein-Barr, supera al número de bacterias aerobias dando como resultado la llamada Asociación Fusoespirilar. Los anaerobios implicados en la misma son Fusobacterium necrophorum y Borrelia vincentii. Esta enfermedad es frecuente en adolescentes y adultos jóvenes. Hay congestión intensa, las amígdalas presentan úlceras cubiertas por una membrana gris, necrótica y poco adherente. Se acompaña con halitosis (mal aliento).

Corynebacterium diphtheriae: agente etiológico de la Difteria, enfermedad que se caracteriza por afectar preferentemente a los niños, aunque la implementación de planes de vacunación utilizando la vacuna DPT, ha logrado que sea una enfermedad poco frecuente. A pesar de esto a partir del año 1994 se han detectado casos y brotes epidémicos en los países de la ex-Unión Soviética.

El comienzo de los síntomas es insidioso, el dolor de garganta no es llamativo, la fiebre no es muy elevada y hay compromiso del estado general con decaimiento y anorexia. La lesión faríngea es una pseudomembrana que involucra amígdalas, pilares y úvula prolongándose hasta el paladar blando, oro y nasofaringe; de color grisácea y bordes netos; rodeada de un halo rojo, difícil de desprender pero que cuando ocurre se caracteriza por dejar un lecho sangrante. La zona se encuentra edematizada y congestiva. Se asocia con adenopatía submaxilar y cervical constante y llamativa. El compromiso del estado general con afectación de diferentes órganos como riñón, corazón y la producción de neuritis por afección de los pares craneales, se relaciona con la ela-boración y liberación por parte de la bacteria de una exotoxina, toxina diftérica, que produce un cuadro tóxico acompañado de taquicardia, palidez e hipotensión.

El diagnóstico directo utilizando la coloración de Gram no es una técnica de rutina ya que la sola presencia de esta bacteria en la faringe no implica que sea agente etiológico, pues es indispensable para que se produzca la enfermedad que tenga la capacidad de elaborar toxina. Para que esto ocurra la bacteria debe ser previamente transducida por un bacteriófago específico, profago ß, que induce la elaboración de la toxina. Por ello para el diagnóstico es necesario realizar aislamiento de la bacteria en cultivo usando medios especiales como el medio de Loëffler o agar cisteína con telurito de potasio, que permiten observar las colonias pigmentadas negro-grisáceas y además la detección de la toxina. Para esto último, se realiza la prueba de Inmunodifusión de Elek o prueba en cultivos tisulares, donde se siembra una suspensión de bacteria sospechosa y se observa la neutralización del efecto citopático por efecto de la antitoxina. Existen técnicas actuales de PCR para la detección de la toxina de la bacteria pero el costo-beneficio hace imposible su implementación en los laboratorios microbiológicos de rutina.

Arcanobacterium haemolylticum: causante de una faringitis exudativa, semejante a la producida por Streptococcus ß hemolíticos. Ha sido reconocida en niños, adolescentes y adultos jóvenes, y se asocia con una erupción cutánea difusa, a veces pruriginosa, eritematosa y maculopapulosa en las extremidades y tronco. Su detección no requiere un procesamiento especial de la muestra. Es un bacilo grampositivo aerobio y de lento crecimiento, por lo que se recomienda la incubación de los cultivos durante 72 h, es inmóvil y no produce catalasa.

Neisseria gonorrhoeae: no es habitante de la microbiota habitual de la vía aérea superior. La presencia de la misma en la faringe responde a la llegada del agente desde otros sitios de infección relacionada con los hábitos sexuales. Su aislamiento se ve dificultado por el número elevado de microbiota normal en las que se incluyen otras neisserias que son saprófitas (Neisseria sicca, subflava, flavescens, elongata, lactámica).

Treponema pallidum: puede producir una lesión ulcerativa en la boca, la lengua o en el velo del paladar. La lesión es semejante al chancro que aparece en genitales externos. La epidemiología y la clínica ayudan al diagnóstico etiológico. En la boca la presencia de

otros treponemas anaerobios de la microbiota normal (Treponema denticola, T. hiododysenteriae, T. orae, T. buccale) dificultan el diagnóstico etiológico por lo que se recomienda hacer el diagnóstico de Sífilis con pruebas serológicas (VDRL o FTA-abs). La elección de una de estas dos pruebas dependerá del tiempo que haya transcurrido desde la aparación del chancro luético.

Causas virales

Virus Influenzae: la odinofagia es un síntoma que se asocia a síntomas generales propios del compromiso general de la gripe como mialgias, cefaleas, tos, asociados a coriza y disfonía. La elevación térmica es importante. Falta el exudado faríngeo y el compromiso ganglionar característicos de la faringitis bacteriana.

Adenovirus: productor de la fiebre faringoconjuntival, cuadro severo asociado con mialgias, cefaleas, mareos, escalofríos con elevación térmica persistente por 5-6 días. La odinofagia es acentuada, con eritema y exudado faríngeo que simulan una faringitis estreptocócica. Lo que permite hacer un diagnóstico diferencial es la presencia de conjuntivitis.

Virus Herpes Simplex: produce la faringitis herpética que se asocia a inflamación, exudado en la faringe con vesículas y úlceras sobre el paladar, que cuando están presentes permiten hacer el diagnóstico diferencial. Puede acompañarse con fiebre y adenopatía cervical dolorosa y la presencia de gingivoestomatitis con vesículas características sobre la mucosa labial y bucal.

Virus Coxsackie A: agente etiológico de la herpangina que se caracteriza por la presencia de pequeñas vesículas sobre el paladar blando, la úvula y los pilares amigdalinos anteriores. Se acompaña con marcada odinofagia, fiebre y disfagia.

Virus Epstein-Barr: causa una faringitis exudativa con fiebre y adenopatía cervical, a esto se le agregan síntomas generales como cefaleas, malestar general persistente y fatiga, adenopatías generalizadas e incluso esplenomegalia denominadas Mononucleosis infecciosa o enfermedad del beso.

Diagnóstico de Laboratorio

Los objetivos del diagnóstico microbiológico de faringitis aguda son:

1) diferenciar la faringitis producida por Streptococcus pyogenes de las causadas por virus.

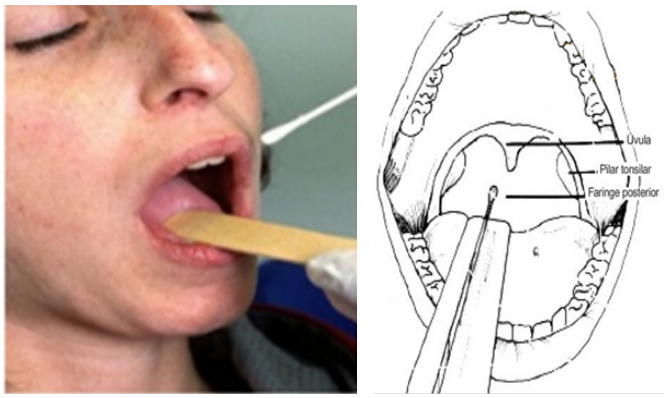
2) prevenir los cuadros post-estreptocócicos como la Fiebre Reumática y la Glomerulonefritis Difusa Aguda, complicaciones tardías de la infección aguda no tra-tada o mal tratada.

3) reconocer el agente etiológico para administrar el tratamiento adecuado.

• Recolección de la muestra

La muestra clínica es el hisopado faríngeo o escobillado faríngeo.

Para un diagnóstico correcto es esencial una buena toma de la muestra (técnica ade-cuada). Se debe deprimir la lengua y frotar el hisopo sobre cada amígdala y la pared posterior de la faringe, evitando el contacto con la lengua y la úvula con la finalidad de arrastrar la menor cantidad posible de flora normal.



Recolección de muestra por hisopado o escobillado faríngeo

En el caso de lesiones pseudomembranosas se deben "arrancar" con una pinza estéril las pseudomembranas, que servirán de muestra clínica.

• Envío, transporte y conservación de la muestra

La muestra debe ser procesada de inmediato. De no ser posible podrá colocarse en un medio de transporte (Stuart, Cary-Blair) a temperatura ambiente. Nunca debe colocarse esta muestra en la heladera.

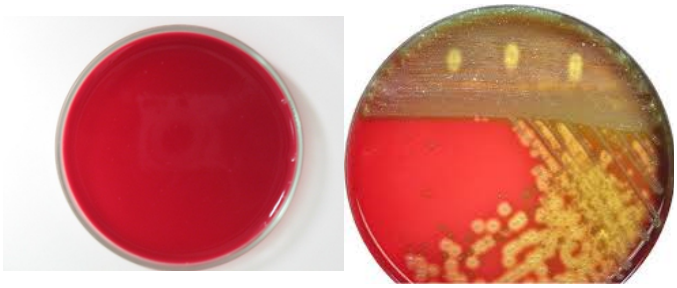
• Procesamiento bacteriológico

Examen directo: Coloración de Gram:

Sólo tiene valor para realizar diagnóstico de asociación fusoespirilar. Esto es así porque al existir una verdadera disbacteriosis la microbiota normal de la boca disminuye predominando los agentes etiológicos de esta enfermedad. La observación de fusobacterias y espiroquetas en la muestra clínica hacen diagnóstico etiológico de esta angina.

Para el diagnóstico de faringitis bacterianas, causadas

por otros agentes etiológicos, la coloración de Gram carece de valor, ya que la gran cantidad de microbiota impide diferenciar estas bacterias de los agentes patógenos.
El fondo oscuro que es útil para el diagnóstico de Treponema pallidum cuando se encuentra en localizaciones genitales, carece de valor diagnóstico cuando la lesión se localiza en faringe debido a la presencia de treponemas saprófitos en esta mucosa. Para este caso se debe recurrir a pruebas serológicas (VDRL, FTA-abs).
Cultivos:
Se realizan en agar sangre de carnero al 5%, medio que es útil para el aislamiento de Streptococcus pyogenes, Arcanobacterium haemolyticum, etc.

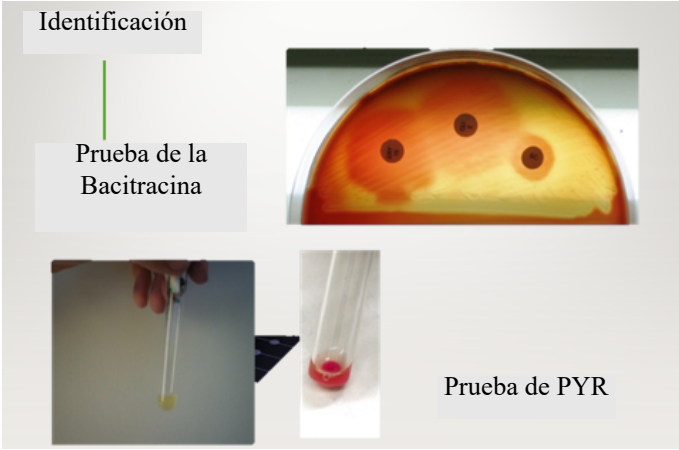


Placa de Agar sangre de carnero Colonias β hemolíticas

El aislamiento de Corynebacterium diphtheriae requiere medios selectivos y se debe realizar a partir de las pseudomembranas, previa ruptura de éstas en un mortero. Los medios de cultivo más utilizados son el medio de Löeffler y el medio de agar sangre con telurito de potasio, que permiten observar las colonias negras de C. diphtheriae.
El aislamiento de Neisseria gonorrhoeae y el estudio de portación faríngea de Neisseria meningitidis deben realizarse por cultivo en medios enriquecidos y selectivos como el Thayer-Martin.
Treponema pallidum es una bacteria no cultivable, por lo tanto, este paso no es útil para el diagnóstico.

Debido al tiempo requerido para la detección de S. pyogenes mediante técnicas de cultivo, se han desarrollado múltiples técnicas para su diagnóstico rápido. La sensibilidad depende del método y de la cantidad de microorganismos presentes en la muestra. En los años 80, y ante la necesidad de obtener resultados con mayor rapidez, se desarrollaron técnicas de detección de antígeno de S. pyogenes en muestras faríngeas tomadas con torunda. Estas técnicas presentan la ventaja de la disponibilidad del resultado en el mismo momento de la consulta. Se basan en la detección del carbohidrato de la pared celular de S. pyogenes. Los primeros sistemas comercializados utilizaban una técnica de aglutinación con látex. Luego se desarrollaron técnicas de enzimoinmunoensayo con puntos de corte claramente definidos y que tienen mejores resultados en cuanto a la sensibilidad.

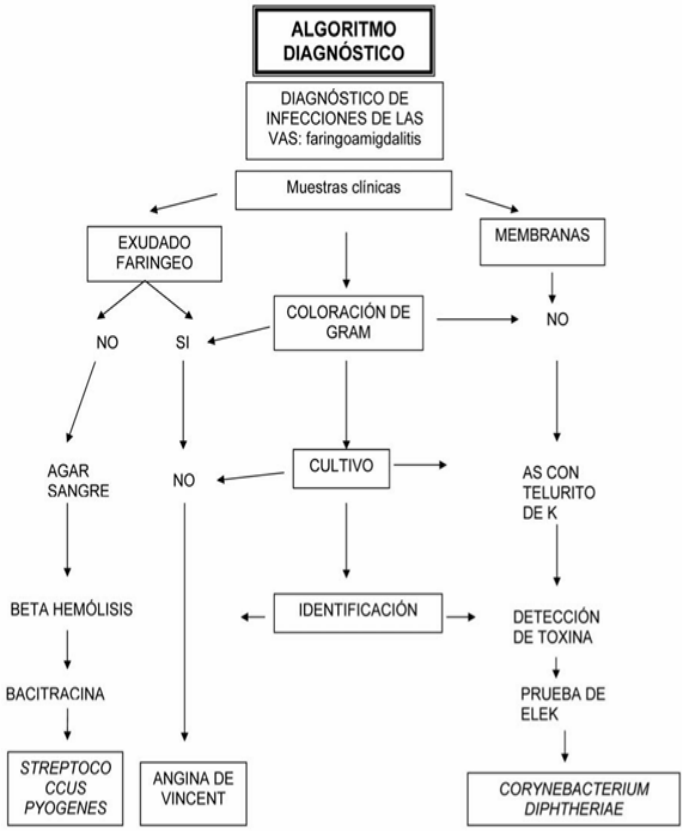
• Identificación
La identificación definitiva de Streptococcus pyogenes se realiza por las pruebas de la bacitracina y el PYR (pirrolidonil-aril-amidasa) y por identificación serológica con los antisueros específicos, una vez que se haya aislado un estreptococo beta hemolítico en el cultivo de agar-sangre.



Los otros agentes requieren diversas pruebas bioquímicas y también serológicas para su identificación. Corynebacterium diphtheriae puede identificarse mediante la búsqueda de la toxina diftérica.
Para sífilis en la vía aérea superior se hace obligatorio solicitar las pruebas serológicas mencionadas con anterioridad.

• Informe de los resultados
Los resultados deben indicar si desarrolló o no el patógeno específico buscado. Por ejemplo, si se ha buscado Streptococcus pyogenes el informe dirá: “no desarrolló Streptococcus beta hemolítico” o “desarrolló Streptococcus pyogenes “.
Diagnóstico virológico
Si se sospecha Virus Herpes o Adenovirus, luego de obtener la muestra clínica por hisopado faríngeo, debe ser colocada en un medio de transporte viral adecuado para intentar realizar su identificación. Se puede

realizar aislamiento viral en líneas celulares o realizar técnicas de inmunodiagnóstico como Inmunofluorescencia directa, o detección de ácidos nucleicos en la muestra.



MICROBIOLOGIA REFLEXIVA

Una mirada hacia la complejidad de los fenómenos biológicos, que ayuda a crear caminos para entender con más profundidad la interacción virus o bacteria y célula.

BUSCADO ("La Bacteria asesina")

Conocido históricamente como la causa más frecuente de faringoamigdalitis bacteriana, desde la década del 80´ se ha producido un significativo cambio en el espectro y presentación clínica de las infecciones por estreptococo beta hemolítico del grupo A en todo el mundo. Se han informado principalmente casos de bacteriemia, infecciones graves de piel y partes blandas, y el cuadro conocido como síndrome del shock tóxico estreptocóccico (SSTS). Actualmente se lo considera un patógeno emergente.

La virulencia de S. pyogenes se debe a la capacidad de adherirse mediante un complejo mecanismo a las células del huésped, y posteriormente invadir las mismas, produciendo además una variedad de enzimas y toxinas.

El proceso de adhesión está mediado por múltiples adhesinas, como el ácido lipoteicoico, proteína M (importante en la adherencia a queratinocitos en infecciones cutáneas), y proteína F. La expresión de las adhesinas difiere según se trate de cepas faríngeas o cutáneas. Diversos factores de virulencia intervienen en la adherencia y penetración a las células epiteliales faríngeas. Esto favorece la portación y la persistencia del microorganismo que conlleva la posibilidad de recaídas (anginas a repetición) o invasión de tejidos profundos (absceso retroamigadalino).

La proteína M es el factor de virulencia más importante de S. pyogenes, a tal punto que las cepas que no expresan esta proteína no son virulentas. Es la principal proteína específica de tipo anclada a la membrana citoplásmica; se extiende a través de la pared celular y su extremo amino sobresale por encima de la superficie de la célula bacteriana. Dicha porción origina la variedad antigénica, y de hecho constituye la base para la clasificación en serotipos. Ésta se realizaba tradicionalmente mediante aglutinación con anticuerpos específicos, aunque pronto se sustituirá esta técnica por la secuenciación del gen emm, que codifica para esta proteína. La respuesta del huésped contra un determinado serotipo confiere inmunidad específica. Los serotipos más comunes en infecciones invasivas son 1 y 3.

La proteína T es una proteína secundaria específica de tipo que sirve como marcador epidemiológico de cepas que no expresan la proteína M.

S. pyogenes posee además una cápsula de ácido hialurónico; junto con la proteína M son los factores de virulencia más importantes de esta bacteria. Dicha cápsula es esencialmente antifagocítica. Las cepas que poseen esta estructura tienen aspecto mucoide, y también se le asigna un importante rol en infecciones de tipo invasivo.

Otros factores de virulencia presentes en esta bacteria son el factor de opacidad, y productos extracelulares, tales como la estreptolisina, estreptoquinasa, hialuronidasa y DNAsas.

Una mención aparte merecen las exotoxinas pirógenas estreptocóccicas, A; B; Cy D, que tienen homología con las enterotoxinas estafilocóccicas A y E. Denominadas anteriormente como toxina eritrogénica, hoy se conocen cuatro, tres de las cuales son producidas por cepas lisógenas. Una singular característica es su capacidad de actuar como superantíge-

nos. Estas proteínas microbianas fascinantes se han convertido en objeto de numerosas investigaciones, ya que interactúan con el sistema inmune en forma no convencional y parecen ser las responsables de varios cuadros clínicos.

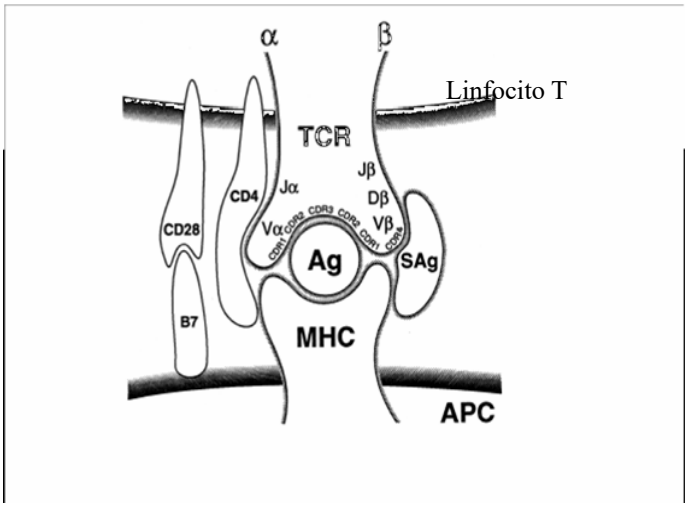
Síndrome del shock tóxico estreptocóccico

Como ya se mencionó anteriormente, en la actualidad se advierte un marcado incremento en la prevalencia de las infecciones invasivas por estreptococo grupo A, particularmente el SSTS, asociado con fascitis necrotizante o miositis, todas ellas asociadas a elevadas cifras de mortalidad

Se denomina SSTS a cualquier infección estreptocóccica asociada con comienzo súbito de shock y fallo multiorgánico, que suele ocurrir en un huésped previamente sano, y cuya puerta de entrada generalmente es la piel, o vagina, etc., desde donde S. pyogenes invade el torrente sanguíneo. Una vez en la sangre o en tejidos profundos, se desencadenan ciertas reacciones que llevan a la inducción de la síntesis de citoquinas en grandes cantidades. En general, las citoquinas interactúan como una compleja red, dirigiendo interacciones celulares y regulando la respuesta inmunológica; sin embargo, una excesiva producción de ciertos tipos de estas sustancias como ocurre en este cuadro, puede producir daño en el huésped, y de hecho, se sabe que juega un rol muy importante en el compromiso multiorgánico del SSTS. Estos datos avalan el empleo de gammaglobulinas y otros moduladores de la respuesta inmune para el tratamiento de estos casos, coadyuvante a la terapia antimicrobiana.

Una de las teorías acerca de la patogénesis del SSTS estaría relacionada con la potente res-puesta inmune generada por ciertas toxinas o superantígenos estreptocócicos, una familia de proteínas altamente mitógenas secretadas individualmente o en ciertas combinaciones por muchas cepas de S. pyogenes, aunque otros factores de virulencia como la estreptolisina O y la proteína M también contribuirían a la patogenia de esta infección.

Los superantígenos son capaces de activar una mayor cantidad de linfocitos T comparadas con antígenos convencionales, y no requieren ser procesadas por las células presentadoras de antígenos. Son capaces de interaccionar tanto con los macrófagos (moléculas clase II del complejo mayor de histocompatibilidad) como con los linfocitos T cooperadores (regiones vB limitadas del receptor), activando en forma no específica un número masivo de linfocitos y des-encadenando una verdadera "tormenta" de citoquinas (respuesta Th2) que se traduce clínica-mente en shock y fallo multisistémico. La molécula de superantígeno se une a la cadena beta de un set de receptores de las células T y también a moléculas clase II del MHC que se expresan en monocitos, células dendríticas y células B. Esto lleva a la proliferación de linfocitos T y liberación de citoquinas en excesivas cantidades.



Esquema de un superantígeno: interacción con TCR y moléculas clase II. Clin Microbiol Rev. 1995 Jul;8(3):411-26.

Otra teoría, más reciente, involucra a la proteína M como el factor más importante en este proceso. La misma puede ser liberada desde la superficie bacteriana y formar agregados con el fibrinógeno, tornándose entonces un perfecto ligando para los receptores de integrinas. La unión de esta integrina sobre los PMN activa los propios mecanismos de defensa de dichas células, liberando metabolitos tóxicos y enzimas líticas. Si esto mismo ocurre en el torrente sanguíneo, el daño se dirige a las células endoteliales, conduciendo al escape vascular y coagulación intravascular diseminada, pudiendo dar hipotensión y llegar hasta el colapso circulatorio.

Sinusitis

Se entiende por sinusitis aguda la inflamación de la mucosa de los senos paranasales de origen bacteriano. A menudo es difícil de distinguir de una simple rinofaringitis vírica o de una inflamación sinusal de causa alérgica.

Los senos paranasales comunican con la cavidad nasal y por ende son susceptibles a la infección por microorganismos que habitan el tracto respiratorio superior.
Los senos maxilares y etmoidales están ya presentes en el momento del nacimiento, los senos esfenoidales aparecen al final de la primera infancia y los frontales en la preadolescencia. Los senos maxilares, las celdas etmoidales anteriores y los senos frontales drenan en el meato medio, situado entre los cornetes nasales superior y medio. Las celdas etmoidales posteriores y los senos esfenoidales drenan en el meato superior.
El orificio de salida de los senos maxilares está situado en la parte superior de su pared medial, lo que dificulta el drenaje espontáneo y predispone a la sobreinfección bacteriana del seno en el curso de infecciones respiratorias víricas.
Los senos etmoidales están constituidos por múltiples celdillas, cada una con un pequeño orificio de drenaje independiente; ello facilita que se produzca retención de secreciones a consecuencia de una inflamación vírica o alérgica de la mucosa.
El principal problema de las infecciones bacterianas de estos senos es que pueden extenderse al sistema nervioso central.

Fisiopatogenia

El origen de estos cuadros se desencadena cuando el cambio de presiones, tanto en la cavidad nasal como en los senos se modifica y se impide el normal drenaje de moco por la obstrucción de los forámenes sinusales.
Predisponen a estos, las alergias, la desviación del septum nasal y los pólipos nasales.
La sinusitis aguda es a menudo precipitada por infecciones virales de la vía aérea superior y adquiere gran importancia en pacientes inmunocomprometidos (trasplanta-dos, neutropénicos).

Agentes etiológicos

Bacterias	Virus
Streptococcus pneumoniae	Rhinovirus
Haemophylus influenzae	Virus Influenza
Moraxella catarrhalis	Parainfluenza
Staphylococcus aureus	

Clínica

Habitualmente es una patología sobre agregada a una rinosinusitis viral, por lo tanto, las características clínicas de la enfermedad son difíciles de diferenciar de aquella. Se puede presentar con estornudos, secreción y obstrucción nasal, presión facial y dolor de cabeza. Puede haber fiebre de 38ºC o más.
Cuando su origen es dentario se asocia con halitosis y dolor a nivel del maxilar.

Diagnóstico de Laboratorio

La muestra adecuada debe ser obtenida por punción aspiración, para ello debe hacerse una correcta antisepsia de las narinas y el área ubicada por debajo del meato inferior, para eliminar los microorganismos colonizantes. Se anestesia la zona en forma local y se punza la pared medial del antro.

Se realizan:
1. Coloración de Gram: tiene valor diagnóstico porque la muestra proviene de una zona normalmente estéril.
2. Cultivo: agar sangre, agar chocolate en microaerofilia y anaerobiosis. Tras una cuidadosa decontaminación del área de los cornetes, se considera significativo de infección el aislamiento de 10^4 unidades formadoras de colonias/ml o más en el material aspirado.

Otitis Externa

Es la infección del conducto auditivo externo.
La microbiota del conducto auditivo externo es similar a la de la piel, existiendo predominio de Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Corynebacterium spp., y en menor medida bacterias anaerobias como Propionibacterium acnes.

Fisiopatogenia

El epitelio absorbe humedad del medioambiente produciendo descamación y denuda-ción de las capas superficiales. En este medio cálido y húmedo los microorganismos pueden prosperar e invadir. Así aparece la inflamación y la supuración.

Agentes Etiológicos

Aquellos que pertenecen a la flora normal y bacilos Gram negativos, particularmente Pseudomonas aeruginosa. Ésta causa una otitis externa conocida como otitis de pileta o del nadador.

Diagnóstico de Laboratorio

La muestra debe ser cultivada en agar-sangre y en un

medio selectivo como Levine o Mc Conkey.
El aislamiento de bacilos Gram positivos difteroides y Staphylococcus epidermidis, constituyentes de la microbiota habitual del conducto auditivo externo, generalmente no tiene significación clínica, se hace necesario hacer un recuento de colonias para dar valor diagnóstico a estos aislamientos.

Otitis Media
La incidencia pico ocurre en los primeros tres años de vida (6-24 meses), siendo menos frecuente durante la edad escolar, la adolescencia y la adultez.

La Otitis media aguda (OMA) se debe a la colonización del oído medio por bacterias procedentes de la nasofaringe, que causan una reacción aguda inflamatoria con producción de pus. Una vez resuelto el episodio agudo, puede persistir en el oído medio cierta cantidad de líquido por dificultades de drenaje. La presencia de este fluido puede causar dificultades auditivas.
La Otitis media serosa (OMS), se define como una secreción asintomática del oído medio que puede asociarse a sensación de "oído taponado". Se sabe que la eliminación incompleta de las bacterias del oído medio después de una OMA puede ser responsable de la inflamación persistente del oído medio, que conduciría a la OMS. Otitis media recurrente, se define como la aparición de tres episodios de OMA en seis meses, o cuatro o más episodios en un año.
Otitis media crónica supurada (OMC), se debe a episodios recurrentes de infección aguda y a una duración prolongada del derrame del oído medio, generalmente producido por un episodio previo de infección aguda.

Fisiopatogenia
El oído medio forma parte de un sistema continuo que incluye narinas, nasofaringe, trompas de Eustaquio y celdas mastoideas. La disfunción anatómica o funcional de las trompas de Eustaquio parece jugar un papel fundamental en el desarrollo de estos cuadros, ya que las funciones de éstas son: protección del oído de las secreciones nasofaríngeas, drenaje hacia la faringe de las secreciones originadas en el oído y ventilación del oído medio para equilibrar las presiones de aire con respecto al oído externo.

Agentes etiológicos

Bacterias	Virus
Streptococcus pneumoniae	V. Respiratorio Sincitial
Haemophilus influenzae	Virus Influenza A
Staphylococcus aureus	Adenovirus
Moraxella catarrhalis	Rhinovirus
Enterobacterias	Virus Parainfluenza
Anaerobios	Enterovirus

Cuadro clínico
Los síntomas y signos pueden ser específicos como dolor intenso de oído, secreción ótica o pérdida de la audición, o inespecíficos como fiebre, irritabilidad, mareos, náuseas, entre otros. El enrojecimiento de la membrana del tímpano es un signo temprano de inflamación. Si la presión de la caja del tímpano es alta, la membrana se rompe y el exudado discurre por el conducto auditivo externo.

Diagnóstico de Laboratorio
Obtención de la muestra: la toma ideal es por punción de la membrana timpánica y aspirado (timpanocentesis o miringotomía).

Procesamiento
Coloración de Gram: tiene valor diagnóstico porque la muestra proviene de un sitio normalmente estéril.
Cultivos: el cultivo del exudado es necesario para determinar el agente etiológico. Se realiza en medios enriquecidos como agar-sangre y agar-chocolate en microaerofilia.

Laringitis o Laringotraqueítis
El término laringitis puede ser encontrado en la literatura como crup, croup, laringotraqueobronquitis y laringitis subglótica. Todos ellos describen un cuadro clínico caracterizado por afonía, tos perruna, estridor y dificultad respiratoria. Existen fundamentalmente dos entidades responsables de este síndrome: la laringotraqueobronquitis aguda viral (LAV) y el crup espasmódico. Desde el punto de vista práctico es de escaso valor diferenciarlas ya que el tratamiento de ambas no difiere.

La laringitis es la causa más frecuente de obstrucción de la vía aérea superior en la infancia. A pesar de que la mayoría de estos cuadros son leves, es una patología potencialmente grave, provocando en ocasiones una obstrucción severa de la vía aérea.
Las laringitis agudas están casi exclusivamente pro-

ducidas por agentes virales. Ocasionalmente se han descrito otros patógenos como Mycoplasma pneumoniae.
El virus más frecuentemente implicado en la LAV es el Virus Parainfluenza tipo 1, así como influenza A y B, Virus Respiratorio Sincitial, Adenovirus, Rinovirus, Enterovirus y otros. La LAV puede complicarse debido a sobreinfección bacteriana, sobre todo en adultos, por microorganismos como Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoníae, Streptococcus pyogenes o Moraxella catarrhalis.
Se produce un edema de la mucosa y submucosa de la porción subglótica de la vía aérea, que resulta ser la más estrecha en el niño. Esto sumado a un aumento de la cantidad y viscosidad en las secreciones, provoca una disminución de la luz traqueal.Al inicio, esta obstrucción puede compensarse con taquipnea. Si la obstrucción aumenta, el trabajo respiratorio puede ser mayor, pudiendo el paciente agotarse. En esta fase de insuficiencia respiratoria aparece hipoxemia e hipercapnia.

Diagnóstico Viral
Obtención de la muestra: aspirado nasofaríngeo, exudados nasofaríngeos y el lavado faríngeo.
Transporte y conservación: la muestra se trasladará lo más rápido posible al laboratorio después de su obtención. Se puede conservar o transportar a un laboratorio de referencia manteniéndola a 4ºC (hasta 72 h), o a -70ºC, hasta su procesamiento.

Procesamiento
La identificación del agente vírico específico de la laringotraqueobronquitis puede lograrse mediante su aislamiento en los cultivos celulares o por técnicas de detección rápida de antígenos.

Epiglotitis
La epiglotitis aguda (EA), es una inflamación de la epiglotis y las estructuras adyacentes de instauración brusca y rápidamente progresiva, que se produce sobre todo en niños pequeños. Su consecuencia más importante es la capacidad de provocar una obstrucción severa e incluso total de la vía aérea superior, pudiendo causar la muerte.
La introducción de la vacuna contra el Haemophillus influenzae tipo b (Hib), el principal patógeno implicado en la EA, ha reducido notablemente su incidencia, especialmente en los niños menores de 5 años.
Otros microorganismos ocasionalmente productores de EA son Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Pasteurella multocida y H. paraphrophilus.
El diagnóstico definitivo se realiza mediante la visualización directa, con ayuda de un depresor lingual o un laringoscopio, de una epiglotis edematosa y con una coloración “rojo cereza”. Es esencialmente clínico sin necesidad de realizar el aislamiento etiológico de los organismos desde el lugar de la infección, más aún, la manipulación de la epiglotis puede conducir a obstrucción respiratoria, siendo por tanto una contraindicación absoluta.
De todas formas, se puede realizar el diagnóstico etiológico, a partir de muestras de sangre donde se puede aislar Haemophílus influenzae tipo B en hemocultivo (95 % de casos) y cultivo de epiglotis en la mayoría de los niños y hasta en el 26 % de los adultos afectos. Este porcentaje puede incrementarse mediante estudio serológico, detección del antígeno capsular del Hib en orina, búsqueda de material genético del germen en sangre o tejido epiglótico mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Clasificación de Streptococcus beta hemolítico (Dra. Rebeca Lancefield).

HEMÓLISIS	**Grupo de Lancefield**	**ESPECIE**	*PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO*
BETA	A	S. Pyogenes	Bacitracina PYR
BETA	B	S. Agalactiae	Hidrólisis del hipurato CAMP
BETA	C	S. Dysgalactiae	
ALFA, BETA O GAMMA	D (*)	Enterocicus fecalis Enterococcus faecium	PYR ClNa Bilis esculina

Streptococcus alfa hemolíticos de importancia clínica:

	Pruebas de diagnóstico
Grupo viridans: Streptococcus sanguis, Streptococcus mutans	diversas
Streptococcus pneumoniae	Optoquina Solubilidad en bilis Quellung (hinchazón de la cápsula)

Fundamento de algunas pruebas bioquímicas:
A) Prueba de catalasa:
Permite separar Géneros Staphylococcus (+) de Strep-

tococcus (-), basado en la producción de catalasa.
Esta enzima libera O2 a partir del H2O2, según la siguiente reacción:

H2O2 ---------- 2 H2O + O2

Interpretación:
Reacción positiva: aparición inmediata de burbujas.
Reacción negativa: no se producen burbujas.

B) Prueba de oxidasa:
Permite realizar la identificación presuntiva de Géneros Neisseria spp. y Moraxella spp. basada en la presencia de citocromo-oxidasa por parte de la bacteria.
Esta enzima produce una reacción de color en presencia del reactivo tetra metilo-p-fenilendiamina.
Interpretación:
Reacción positiva: aparición de color rosado que puede virar al negro. Reacción negativa: no se observa cambio de color.

C)Prueba de la optoquina:
Permite diferenciar S. pneumoniae (neumococo) de otros estreptococos alfa hemolíticos mediante la demostración de la fragilidad de la membrana celular bacteriana en presencia de clorhidrato de etilhidrocupreína. Esto produce el lisado de los neumococos mientras que los otros estreptococos son resistentes.
Interpretación:
Reacción positiva: zona de inhibición del crecimiento alrededor del disco de optoquina.

D) Sensibilidad a la bacitracina:
Permite diferenciar estreptococo hemolítico del grupo A de otros estreptococos hemol íticos.
El crecimiento de S. pyo genes es inhibido por 0,04 U de bacitracina mientras que, por lo general no ocurre lo mismo con el crecimiento de otros estreptococos hemolíticos. La bacitracina (un antibiótico) detiene el crecimiento inhibiendo los pasos tempranos de la síntesis del peptidoglicano.
Interpretación:
Reacción positiva: halo de inhibición de crecimiento.

E)Hidrólisis del Hipurato:
Streptococcus agalactiae sintetiza la enzima hipuricasa mientras que otros estreptococos carecen de la misma. La hipuricasa hidroliza el hipurato de sodio.
Interpretación: formación de precipitado

F) Reacción de hinchazón capsular o reacción de Quellung:
Streptococcus pneumoniae puede identificarse utilizando anticuerpos específicos que producirán un típico agrandamiento de su cápsula. La reacción se revela con una colo-ración de azul de metileno y se observa al microscopio óptico.

G) Prueba de CAMP:
S. agalactiae produce una proteína extracelular difusible conocida como factor CAMP (Christie, Atkins, and Munch Peterson). Este interacciona con la -hemolisina estafilocócica produciendo una intensificación de la actividad hemolítica sobre glóbulos rojos de oveja. Consiste en trazar una sola estría del estreptococo perpendicular a una estría de Staphylococcus aureus productor de hemolisina.
Interpretación: intensificación de la zona de hemólisis en punta de flecha por potenciación de actividad hemolítica de ambas lisinas bacterianas.

H) Solubilidad en bilis al 40%:
Las sales biliares, principalmente el taurocolato de sodio y desoxicolato de sodio, tienen la capacidad de lisar selectivamente a Streptococcus pneumoniae cuando el reactivo se añade a las células bacterianas que se desarrollan en el medio de cultivo. S. pneumoniae produce una enzima autolítica que explica la depresión central característica de las colonias viejas en agar. Se cree que la adición de sales biliares acelera el proceso aumentando la reacción lítica asociada con la disminución de la tensión superficial entre el medio y la membrana celular bacteriana.

I) Prueba de la bilis esculina:
Se basa en la capacidad de ciertas bacterias, particularmente los estreptococos del Grupo D, de hidrolizar la esculina en presencia de bilis. Se forma un complejo marrón oscuro o negro produciendo un oscurecimiento difuso del medio bilis-esculina que contiene citrato férrico como fuente de iones férricos.

J) Prueba del “PYR”:
Consiste en la capacidad de ciertas bacterias de hidrolizar la pirrolidonil-aril-amidasa en menos de 30´, liberándose el grupo pirrólico, que se detecta con el reactivo revelador cian maldeh ído.
Esta prueba es positiva para cocos Gram (+), catalasa negativa: S. pyogenes y Enterococcus spp.

Bibliografía

• Murray, P., Baron, E. et al. 1999. Manual of Clinical Microbiology. ASM press. 7th. Edition. Washington DC, USA.

• Littvik, A y col. 2008. Tras las Huellas de un Mundo Invisible. Sima Editora 4ª Ed. Córdoba, República Argentina.

• Jawetz et al. Microbiología Médica. Editorial Mc-Graw Hill. 25ª Ed. 2010.

• Forbes, B., Sahm, D. et al. 2009. Bailey & Scott. Diagnóstico Microbiológico. Ed. Panamericana. 12va. Edición. Buenos Aires, República Argentina.

Capítulo 13
Neuroinfecciones

Introducción

El sistema nervioso central (SNC) es una parte altamente especializada y diferenciada, con propiedades esenciales para el funcionamiento del hospedero en su conjunto y con características tan particulares que algunos agentes capaces de infectarlo han adquirido un nivel evolutivo que les permite infectar y persistir en un tejido que le ofrece ciertas ventajas. Su macro y microestructura están separadas del resto del organismo.

Incluido en el interior del cráneo y de la columna vertebral está aislado de los fluidos del organismo por la barrera hematoencefálica. Dentro de esta barrera no hay síntesis de anticuerpos, tampoco vasos linfáticos y muy pocas células fagocíticas.

Todo lo dicho, ha construido el concepto que el sistema nervioso central tiene un privilegio inmune. Este privilegio inmune es indispensable para la limitación del daño que ocurre durante la inflamación habida cuenta de su poca capacidad de regeneración. Numerosos antígenos que se encuentran dentro del sistema nervioso central evaden el reconocimiento inmunológico, mientras que esto no ocurre en otras áreas tales como los ventrículos cerebrales, órganos circunventriculares, las meninges y los plexos coroideos. Este privilegio inmune está confinado al parénquima cerebral y resulta de un proceso activo derivado más bien de la respuesta inmune específica, aún cuando también es aplicable a la inespecífica. Este inmune privilegio desaparece una vez que el sistema nervioso central está inflamado.

Las infecciones del Sistema Nervioso Central (SNC) tienen características particulares. En primer lugar, ocurren en un espacio anatómico cerrado, separado espacial e inmunológicamente del resto del organismo, como ya se ha mencionado. En segundo lugar, si bien el SNC puede ser invadido por casi todos los microorga¬nismos patógenos conocidos (bacterias - virus - hongos - parásitos), el curso clínico de las infecciones en este sitio suele ser bastante diferente y variable. En la mayoría de estas infecciones el pronóstico es reservado: principalmente las producidas por bacterias, que producen alta mortalidad, o secuelas permanentes en los pacientes que sobreviven. El diagnóstico precoz y tratamiento específico de estas infecciones son factores determinantes para evitar el daño y permitir la resolución del cuadro.

Por lo anteriormente expuesto se deduce que los pacientes con sospecha de infección en el SNC requieren inmediata intervención médica y del laboratorio para determinar la etiología y así indicar el tratamiento adecuado.

Epidemiología

Los principales factores epidemiológicos a tener en cuenta para el diagnóstico son: edad del paciente, procedencia, época del año, condición socioeconómica, estado inmunológico, tiempo de evolución, existencia de foco respiratorio. traumatismo craneoencefálico, neurocirugía Dichos factores varían según el microorganismo involucrado.

Fisiopatogenia

La mayoría de los microorganismos llegan al SNC por diseminación hematógena, resultante de la infección de tejidos en sitios alejados (neumonía, celulitis, endocarditis). Con menor frecuencia, pueden hacerlo por contigüidad desde focos como oído medio o senos paranasales. Por último, también existe la vía intraneural, utilizada por algunos virus.

Agentes etiológicos

Bacterias (según edad):

Neonatos y lactantes (hasta 2 meses):

Escherichia coli

Streptococcus agalactiae

Listeria monocytogenes

Niños (2 meses hasta 5 años):

H. influenzae

S. pneumoniae

N. meningitidis

Adultos:

S. pneumoniae

N. meningitidis

Virus:

Enterovirus

Virus Herpes Simplex Citomegalovirus

Virus Epstein-Barr

Virus de la Parotiditis

VIH tipo 1

Arbovirus

Virus Rabia
Arenavirus

Inmunodeprimidos:
Además de los agente descriptos:
Listeria monocytogenes
Pseudomonas spp.
Mycobacterium spp.
Cryptococcus spp.

Cuadros clínicos
Generalmente el paciente con infección en el SNC se presenta con un cuadro clínico llamado síndrome meníngeo, caracterizado por cefalea, vómitos, fiebre y alteración del estado de conciencia (excitación o depresión).
El cuadro infeccioso se denomina meningitis si se afectan las meninges y, si se com-prometen estructuras encefálicas, encefalitis. También se puede utilizar el término meningoencefalitis, según la manifestación clínica.

Diagnóstico de Laboratorio

Obtención de la muestra:
La presencia de infección en el SNC generalmente produce cambios en la composición del Líquido Cefalorraquídeo (LCR). El LCR es la muestra adecuada para investigar agentes causantes de infección en dicho sitio, y se obtiene por punción lumbar. Debe ser realizada por un médico entrenado, ya sea el neurólogo, neurocirujano, infectólogo. En primer lugar deberá realizarse un buen procedimiento de antisepsia de la piel de la zona. Luego se hace la punción, entre la 4ta y la 5ta vértebras lumbares, para no lesio¬nar la médula espinal. Una vez alcanzado el espacio subaracnoideo (verdadero reservorio del LCR) se procede a recolectar el LCR, que fluye gota a gota a través de la aguja de punción.
Se recogerá en frascos estériles, preferentemente con tapa a rosca (para evitar aerosoles y contaminación): uno para el estudio físico-químico y otro para el estudio microbiológico.
La muestra de LCR debe ser inmediatamente enviada al laboratorio, ya que los neutrófilos, si están presentes, pueden lisarse, alterando así el recuento, y en caso de haber microorganismos fastidiosos, que éstos no sobrevivan durante tiempos prolongados.
En caso de sospechar etiología viral, se refrigerará el LCR obtenido, como también si se desean solicitar pruebas de biología molecular.
Estudio físico-químico del LCR:
Es muy importante para la orientación diagnóstica y comprende:
· Aspecto: normalmente es límpido (cristal de roca), con una viscosidad comparable a la del agua.
Si el aspecto es turbio puede deberse principalmente a presencia de leucocitos, microorganismos o hematíes. Las bacterias producen meningitis purulenta a líquido turbio, con algunas excepciones. Los virus producen líquidos claros, al igual que las micobacterias.

· Color: normalmente se presenta como transparente, pero puede ser rojizo, si con¬tiene sangre (generalmente se debe a una punción lumbar traumática), o amarillento (xantocrómico).

· Recuento celular: en adultos puede haber hasta 5 células/mm3 en condiciones normales (linfocitos o células endoteliales).

En las meningitis bacterianas se observa pleocitosis a predominio de neutrófilos (miles); en meningitis tuberculosa el predominio es a linfocitos (cientos), y en meningitis virales hay también predominio de mononucleares.
El recuento de células se realiza primero en cámara cuentaglóbulos, y para el recuento diferencial se centrifuga y luego se colorea con May Grumwald-Giemsa.

·Proteínas: el LCR normalmente contiene una pequeña cantidad de proteínas (15-45% mg./dl). En las meningitis bacterianas la proteinorraquia está elevada, como también en las de origen tuberculoso. Los valores son normales o se encuentran ligeramente aumentados en las meningitis virales. Esto se debe a la inflamación de las meninges.

· Glucosa: normalmente la cantidad de glucosa presente en LCR corresponde al 60% de su valor en sangre, por lo que la determinación de la glucorraquia debe ser efectuada junto con la de la glucemia y por la misma metodología de valoración.
En las meningitis bacterianas hay hipoglucorraquia, pudiendo ser ésta incluso no dosable (la bacteria utiliza la glucosa para sus procesos metabólicos). En las meningitis de etiología viral los niveles de glucorra-

quia se conservan normales.
Estudio microbiológico
1. Examen directo: Coloración de Gram: tiene indiscutible valor diagnóstico porque la muestra proviene de una zona normalmente estéril, sirviendo además de orientación al médico para el tratamiento empírico.

2. Cultivo: agar chocolate y agar sangre en microaerofilia. Por otra parte, si se sospecha tuberculosis meníngea, sembrar la muestra en medio de Lowestein-Jensen.

3. Identificación: las pruebas a realizar dependen del microorganismo que ha desarrollado en los cultivos.

4. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana:

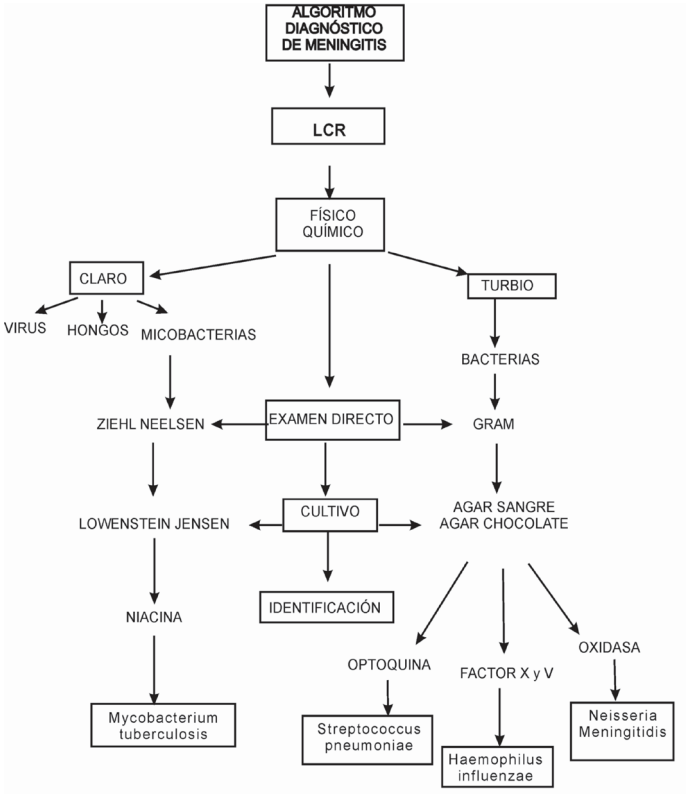
a- Difusión con discos.

b- Dilución: la determinación de la CIM de ciertos ATM (penicilina, ceftriaxona) es fundamental para guiar la terapéutica antimicrobiana, ya que su concentración en el LCR debe ser por lo menos diez veces el valor de la CIM para lograr bactericidia. Por ello, es imprescindible solicitar la realización de estas pruebas de sensibilidad antimicrobiana.
En la actualidad, tanto N. meningitidis, como H. influenzae y S. pneumoniae pueden presentar resistencia a ATM que se utilizan para el tratamiento de infecciones del SNC, tales como penicilina, ampicilina y cefalosporinas de 3ª generación.

Entre los mecanismos de resistencia encontramos con mayor frecuencia los siguientes:
· producción de enzimas inactivantes (H. influenzae)
· alteración de las PLP (proteínas ligadoras de penicilina en S. pneumoniae y N. meningitidis).

Detección de antígenos bacterianos (Tests rápidos):
Se realizan a partir de la muestra de LCR. En general, estas pruebas son menos sensibles que el cultivo, y sumamente costosas; se recurre a ellas cuando el paciente ya ha recibido alguna dosis de ATM, lo que dificulta la visualización en el Gram o el desarrollo en medios de cultivo. Los tests rápidos más utilizados son:
· Coaglutinación
· Aglutinación con látex
· Contrainmunoelectroforesis

Prevención de las meningitis bacterianas
Actualmente contamos con vacunas efectivas para los principales agentes causales de meningitis bacteriana aguda: Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae serotipo b y Neisseria meningitidis. En el capítulo de vacunas se encuentra especificada la composición de las vacunas que se encuentran disponibles en la actualidad.
Estudios en diversos países indican que la utilización de las mismas ha logrado reducir la incidencia de estas infecciones.
No debemos olvidarnos de la BCG (bacilo de Calmette-Guèrin), vacuna de discutido valor para la prevención de las formas pulmonares de tuberculosis, pero altamente efectiva para prevenir la tuberculosis meníngea y las formas diseminadas.



La historia natural de las infecciones virales del SNC, las vías de acceso viral así como los diferentes mecanismos patogénicos implicados, hacen necesario el desarrollo de esta temática de un modo particular.
Si bien el acceso al SNC es difícil, es un sitio ideal para la persistencia viral como una estrategia del agente en células que se dividen poco o no lo hacen.
Los síntomas y signos de las infecciones del sistema nervioso central dependen de las poblaciones celulares infectadas por el virus. Si la infección está li-

mitada a las células de las meninges y epéndimo las manifestaciones clínicas serán cefalea, fiebre, rigidez de nuca. Este cuadro clínico corresponde a una meningitis viral que suele comportarse como una enfermedad benigna autolimitada. Por otra parte si la infección progresa al parénquima cerebral, además de los signos de irritación meníngea, se observarán depresión del estado de conciencia, deficiencias neurológicas focalizadas y aumento de la presión intracraneal.
Este cuadro clínico corresponde a una encefalitis viral.
Suelen agregarse también convulsiones, debilidad motora, hiperreflexia. Con el compromiso del eje hipotálamo pituitario puede aparecer hipotermia, poiquilotermia, diabetes insípida y secreción inadecuada de hormona antidiurética.
El compromiso posterior de la médula espinal, agrega parálisis fláccida, íleo intestinal y vesical.
Finalmente, la poliomielitis es una enfermedad que indica un compromiso de la neurona motora anterior. Fiebre, dolor de cabeza, vómitos, rigidez de nuca, rigidez muscular e hiperreflexia son los primeros signos y síntomas que anteceden a la parálisis muscular e hiporreflexia. Las piernas se afectan con más frecuencia que los brazos y el ascenso del virus lo lleva a los centros bulbares motores y a la formación reticular con insuficiencia cardiorrespirtoria.
La mayoría de los agentes virales que acceden al SNC producen infecciones generalizadas, es decir, que tienen una fase virémica para poder llegar a su órgano blanco. La excepción la constituyen aquellos agentes virales con capacidad para diseminarse por vía neural, a partir de una infección localizada (Virus Herpes Simplex); y el Virus Rabia que ingresa por inoculación directa al sistema nervioso periférico.
El tracto respiratorio superior, el tracto digestivo y el contacto con mucosas son la puerta de entrada de numerosos virus neurotropos (Virus Parotiditis, Virus Rubéola, Virus Sarampión, Virus Polio, Enterovirus, Virus Herpes Simplex tipo 1 y tipo 2).
Desde estos sitios de replicación primarios tienen una fase virémica, no detectable en el laboratorio, y la posibilidad de ingresar al SNC.
Otros agentes que ingresan por inoculación (Arbovirus) son aislados de sangre.
La vía transplacentaria es utilizada por algunos virus para llegar a su huésped, el feto, en general durante los primeros meses del embarazo.
Los agentes que infectan el SNC son en general poco patogénicos, excepto los virus Rabia y Sarampión. De tal modo las formas subclínicas de infección son frecuentes.
La respuesta inmune puede tener un papel patogénico en las encefalopatías postinfecciosas (Virus Sarampión, Rubéola, Parotiditis y Varicela-Zoster).

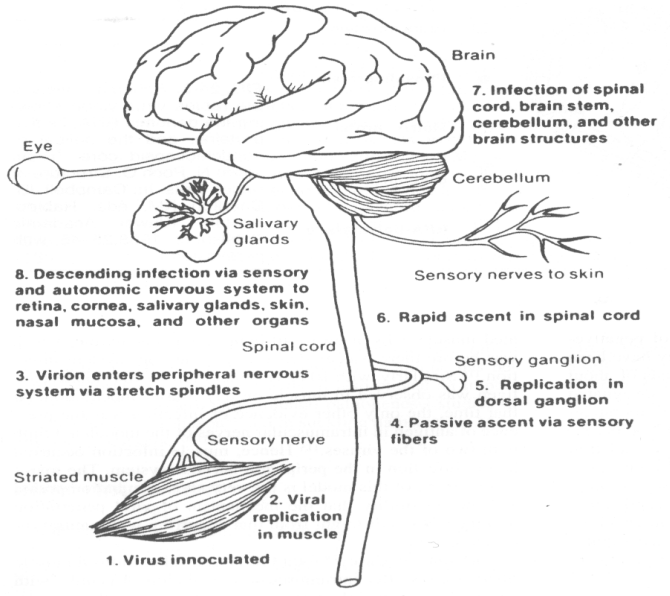
Historia natural de la infección viral del SNC
A partir de múltiples puertas de entrada (inoculación, respiratoria, digestiva, contacto con mucosas y transplacentaria) el virus establece su contacto con la célula susceptible e inicia su ciclo de replicación. La infección puede permanecer limitada a esta zona o acceder a órganos blanco situados a distancia como el SNC. Los agentes que acceden al SNC deben tener en algún momento una fase virémica o bien hacer contacto con el sistema nervioso periférico.

Las vías de acceso al SNC son:
a. La vía neural
b. La vía hematógena

a. La vía neural: el virus puede replicar en las terminaciones sensitivas o motoras y desplazarse dentro de los axones como si fuese una organela celular. La infección de las células de Schwann, de los linfáticos perineurales y del espacio endoneural, constituyen los sitios a partir de los cuales el agente llega al SNC. Los agentes que acceden por esta vía son los virus Herpes Simplex, Rabia y Polio.
La vía del nervio olfatorio constituye un mecanismo particular en el que, a partir del epitelio de la mucosa nasal, los agentes mencionados pueden acceder al nervio olfatorio y al SNC.

b. La vía hematógena: Una viremia inicial con baja concentración de virus ha ocurrido en el sitio de entrada al hospedero.
Para algunos virus puede ser el músculo esquelético, el tejido conectivo, por inyección directa del mismo como en el sitio de picadura de un mosquito (Arbovirus).
Para otros suelen ser las mucosas (a través, en algunos casos, de las células M) y el tejido linfático eferente, que drenando al conducto torácico lleva al virus a la circulación sistémica, como por ejemplo los enterovirus. Otros virus luego infectan las células endoteliales.
Luego de esta viremia primaria el virus se disemina al sistema retículoendotelial y a otros órganos en donde

una viremia secundaria conduce a una presencia del virus en mayor concentración y durante más tiempo en el torrente sanguíneo. La viremia conduce al agente por vía sanguínea al SNC, por un camino que no resulta fácil.
La barrera hematoencefálica hace necesario que el agente infecte el endotelio vascular del SNC o bien acceda a través de las fenestraciones del plexo coroideo. Los elementos celulares infectados representan otro mecanismo de ingreso.
De este modo la invasión del SNC por vía hematógena requiere una secuencia de eventos que involucran la infección de tejidos extraneurales, células de la sangre y de las membranas que separan el cerebro del fluido sanguíneo.
Ejemplos típicos de los eventos que conducen a una diseminación virémica y a una llegada del virus al sistema nervioso son los que ocurren con:
Virus Herpes Simplex
Enterovirus
Virus Parotiditis
Arbovirus
Virus Sarampión



Vía de entrada de los virus al SNC

Clasificación
La infección viral del SNC puede ser clasificada según su evolución en: (a) infección viral aguda y (b) infección viral persistente.

(a) Las infecciones virales agudas pueden involucrar diferentes estructuras del sistema nervioso, y corresponden a:
Meningitis virales: donde el virus infecta a las células que forman las meninges y el epéndimo. La recuperación es a menudo completa.
Encefalitis virales: donde el virus infecta las neuronas. La destrucción de éstas lleva a una pérdida de la función, pues no pueden ser reemplazadas.
Encefalomielitis postinfecciosa: severa patología desmielinizante en la cual la infección viral provoca un ataque inmunológico a la mielina.

(b) Las infecciones virales persistentes involucran raras patologías crónicas desmielinizantes, en las cuales el agente viral ha persistido por años en el SNC.

Puertas de entrada de los agentes virales que causan infecciones del SNC

INOCULACIÓN
Picadura de insecto ..... Arbovirus
Mordedura de animal..... Rabia
Parenteral.....HIV, Citomegalovirus

RESPIRATORIA
V. Parotiditis
V. Rubéola
V. Sarampión
Arenavirus
Adenovirus

CONTACTO CON MUCOSAS
V. Herpes Simplex
Virus Epstein-Barr
Citomegalovirus

DIGESTIVA
Enterovirus

TRANSPLACENTARIA (infecciones congénitas)
Citomegalovirus
V. Rubéola

Infecciones virales agudas del SNC

Meningitis virales:
Los agentes virales infectan los epitelios meníngeos.
Agentes etiológicos:
Enterovirus
V. Parotiditis
Arenavirus
Virus Herpes Simplex

Encefalitis virales:
La encefalitis es la inflamación del cerebro. El virus infecta a las neuronas
La encefalitis viral aguda es una patología en la cual la neurona está infectada directamente con un agente viral, en donde existe destrucción celular, neuronofagia, necrosis tisular e inflamación perivascular. Este tipo de infección se ubica primariamente en la materia gris.

Son agentes de encefalitis:
Herpesviridae: Virus Herpes Simplex, Citomegalovirus, Epstein- Barr
Virus Parotiditis
Arbovirus: Virus de la Encefalitis Equina del Este
Virus de la Encefalitis Equina del Oeste
Virus de la Encefalitis Equina Venezolana
Virus de la Encefalitis de Saint Louis
Virus Rocío
Virus La Crosse
Arenavirus: Virus de la Coriomeningitis Linfocitaria
Rabia
Enterovirus: virus Polio, Enterovirus y Coxsackie
Adenovirus
Virus de la Inmunodeficiencia Humana

La encefalomielitis postinfecciosa:
Es una enfermedad desmielinizante que ocurre como una complicación de determinados exantemas virales de la niñez.
Presenta una desmielinización localizada en la materia blanca del SNC. No existe evidencia de daño directo a las neuronas. El agente viral es raramente aislado de cerebro. La respuesta inmune celular y humoral desencadenada por el virus reacciona en forma cruzada con epitopes de proteínas propias del hospedero (mielina).
La encefalomielitis postinfecciosa más común sigue luego de algunas semanas del exantema sarampionoso. Menos frecuentemente varicela, parotiditis y rubéola pueden tener esta complicación.
Agentes etiológicos:
Virus Sarampión
Virus Parotiditis
Virus Rubéola
Virus Varicela -Zoster
Infecciones virales persistentes del SNC
Infecciones desmielinizantes
Ciertos agentes virales pueden persistir en el SNC, produciendo una infección lenta que conduce luego de algunos años a una severa patología desmielinizante.

Panencefalitis esclerosante subaguda	V. Sarampión
Panencefalitis rubeólica progresiva	V. Rubéola
Leucoencefalopatía multifocal progresiva	Virus JC en inmunodeprimidos (SIDA)

Epidemiología
El reservorio de estos agentes virales es el hombre y roedores (Arenavirus).
El mosquito es un vector en los Arbovirus, cuyos huéspedes pueden ser el hombre y otros animales (zoonosis).

Prevención, control y erradicación
Las infecciones por sarampión, rubéola, parotiditis y polio pueden ser prevenidas y controladas por la vacunación. El control de vectores (mosquitos) así como el de determinados reservorios (ratones) es importante en la prevención de las infecciones por Arbovirus y Arenavirus. Para otro grupo de agentes se dispone (Virus Herpes Simplex) de una terapia antiviral efectiva.

Diagnóstico microbiológico de las infecciones virales del SNC
Métodos de diagnóstico virológico directos:

Las muestras clínicas para el aislamiento viral, detección de antígenos o de ácidos nucleicos virales son:

Enterovirus:
Virus Polio: materia fecal e hisopado faríngeo.
Virus Coxsackie y Echo: materia fecal, hisopado faríngeo y LCR.
Virus Parotiditis: hisopado faríngeo y LCR.
Arbovirus: sangre y LCR.
Herpes Virus: LCR, material de las lesiones, cerebro.
Rabia: LCR, saliva, cerebro.

Métodos indirectos de diagnóstico virológico:
- Aparición de IgM específica.
- Búsqueda de seroconversión (IgG) entre dos muestras de suero (agudo y convalesciente).

Bibligrafía

• Johnson, R. 1998. Viral Infections of the Nervous System. Lippincott-Raven. 2nd. Edition. Philadelphia, USA.
• Murray, P., Baron, E. et al. 1999. Manual of Clinical Microbiology. ASM press. 7th. Edition. Washington DC, USA.
• Littvik, A y col. 2008. Tras las Huellas de un Mundo Invisible. Sima Editora 4ª Ed. Córdoba, República Argentina.
• Jawetz et al. Microbiología Médica. Editorial McGraw Hill. 25ª Ed. 2010.
• Forbes, B., Sahm, D. et al. 2009. Bailey & Scott. Diagnóstico Microbiológico. Ed. Panamericana. 12va. Edición. Buenos Aires, República Argentina.

Capítulo 14
Infecciones respiratorias bajas

"*Un niño está en medio de sus juegos: algunos minutos antes que la crisis llegue, él se detiene; su alegría deja lugar a la tristeza; si se encontraba en compañía de sus camaradas, se aparta de ellos y busca evitarlos. Es entonces, permítanme, señores, esta expresión, es entonces cuando medita su crisis, la siente venir... Primero trata de hacer abortar la quinta; en lugar de respirar naturalmente, a pleno pulmón, como respiraba hasta ahora, retiene su respiración; parece comprender que el aire, llegando de lleno a su laringe, va a provocar esa tos fatigante, de la cual tiene triste experiencia... De inmediato verán al enfermo buscar a su alrededor un punto de apoyo: si es un niño al pecho, se precipita en los brazos de su madre o de la nodriza... Pero, lo repito, cualquier cosa que haga nada impedirá, no podrá más que retardar la explosión.*"

Armand Trousseau, 1865.

Introducción

Las vías aéreas inferiores son microbiológicamente estériles, esto significa que la presencia de un microorganismo, sea éste virus, parásito, hongo o bacteria, lo hace el agente etiológico causal de la patología infecciosa que cursa clínicamente un paciente.

La localización de la patología hace dificultoso el diagnóstico microbiológico.

Epidemiología

Las infecciones respiratorias agudas constituyen uno de los problemas de Salud Pública más importante para la población infantil de 0 a 5 años y están dentro de las primeras 5 causas de mortalidad. Dentro de esta población, los diagnósticos principales son: Neumonía e Influenza, seguidas por Bronquitis y Bronquiolitis. La mayoría de las muertes por enfermedades respiratorias ocurren antes del año de edad, especialmente entre los dos y tres meses. El 20% de la mortalidad infantil en algunas regiones de nuestro país es domiciliaria y de ese 20%, un alto porcentaje es atribuible a Infecciones Respiratorias Bajas. El 60% de los niños menores de 1 año y el 50% de los menores de 5 años, padecen un episodio de infección respiratoria aguda, en el trascurso de un año, dentro de los cuales se encuentran el síndrome bronquial obstructivo y las neumonías. En la población económicamente activa, de 20 a 64 años de edad, las enfermedades del sistema respiratorio son la cuarta causa de mortalidad, la mayoría en personas de sexo masculino, ubicadas luego de los tumores, las enfermedades del sistema circulatorio y las causas externas. La neumonía es la principal causa de muerte por enfermedades respiratorias, responsable de una de cada tres defunciones por esta causa. Es por esto que se la considera la patología pulmonar de mayor interés clínico-microbiológico como entidad infecciosa de las vías aéreas inferiores. La neumonía es la afección que con mayor frecuencia requiere de un cuidadoso estudio de laboratorio.

Clínicamente se manifiesta en forma diferente dependiendo del microorganismo invasor.

Fisiopatología

Los mecanismos de defensa que el aparato respiratorio posee para impedir el ingreso de microorganismos son: la tos, la producción de moco por las células caliciformes y el epitelio cilíndrico ciliado, además de la presencia de inmunoglobulina A secretora.

La diferencia anatómica existente entre los bronquiofuentes derecho e izquierdo hace que el pulmón derecho sea más susceptible a las infecciones (más recto, más ancho y más corto).

La vía de ingreso más frecuente es por inhalación, pero también otras vías pueden ser la aspiración (desde la microbiota de la boca), la vía hematógena o por contigüidad.

Se denomina inhalación a la llegada de un microorganismo desde el exterior y aspiración al ingreso de agentes que constituyen la microbiota habitual o transitoria de la vía aérea superior.

Los agentes etiológicos son diferentes si el paciente adquiere la infección en la comunidad o en el hospital.

Esquemáticamente las afecciones de las vías aéreas inferiores pueden dividirse en:

Bronquiolitis: es un cuadro que expresa una inflamación aguda y difusa de las vías aéreas inferiores, y que se manifiesta con obstrucción de la pequeña vía aérea. Es una patología propia del lactante, con un franco predominio en los lactantes menores de 6 meses y prevalente en los meses fríos. La mortalidad es baja, pero aumenta ante la presencia de enfermedades de base como cardiopatías congénitas o en prematuros con displasia broncopulmonar.

Definición de caso: Todo niño menor de 2 años, con primer o segundo episodio de sibilancias, asociado a evidencia clínica de infección viral con síntomas de obstrucción bronquial periférica, taquipnea, tiraje, o espiración prolongada, con o sin fiebre.
Es de origen viral y los agentes más frecuentes son: Virus Respiratorio Sincicial (70%, más frecuente en invierno), Metapneumovirus Humano (hMPH) descubierto en 2001, Virus Influenza (más frecuente en otoño), Virus Parainfluenza, Adenovirus y Rinovirus.
Bronquitis: corresponde a la inflamación del árbol bronquial. Puede ser producida por S. pneumoniae, H. influenzae, M. catarrhalis, Virus Influenza, Virus Parainfluenza, Virus Respiratorio Sincicial. Las bronquiolitis, inflamaciones de los bronquíolos, son producidas por el Virus Respiratorio Sincitial, Virus Influenza y Virus Parainfluenza.

Neumonías típicas: es una enfermedad respiratoria aguda febril (> 38°) con tos, dificultad respiratoria y taquipnea.
Es producida por bacterias como Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Staphylococcus aureus, bacilos Gram negativos de la familia Enterobacteriaceae, bacilos Gram negativos no fermentadores (Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter spp.) y Moraxella catarrhalis adquiridos tanto en la comunidad como en el ambiente hospitalario, afectan especialmente a las edades extremas de la vida y comprometen el parénquima pulmonar.

Neumonías atípicas primarias o neumonitis intersticial: producidas en la mayoría de los casos por virus (Virus Influenza A y B, Virus Respiratorio Sincicial, Virus Parainfluenza, Rhinovirus, Enterovirus, Virus Sarampión, Virus Varicela-Zoster, Citomegalovirus, Herpes simplex, Virus Epstein Barr, Virus Hantaan) y por bacterias especiales, que tienden a comportarse como virus (parásitos intracelulares obligados) tales como Chlamydia psittaci, Chlamydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae, Legionella pneumophila, y rickettsias como Coxiella burnetti.
Chlamydia trachomatis puede producir neumonías en el recién nacido. Afectan el intersticio y se denominan microorganismos especiales porque el estudio de laboratorio requerido para el diagnóstico es altamente específico.

Pertussis: la pertussis, tos convulsa, tos ferina o coqueluche es una enfermedad aguda infecciosa causada por la bacteria Bordetella pertussis. Otras especies del género pueden producir una signología y sintomatología semejantes: B. parapertussis y bronchiseptica.
Los brotes de pertussis se describieron por primera vez en el siglo XVI, y se aisló al organismo por primera vez en 1906.
En el siglo XX, la pertussis fue una de las enfermedades más comunes durante la niñez y una de las mayores causas de mortalidad infantil en los Estados Unidos. Más de 200.000 casos de pertussis se reportaban anualmente antes de la disponibilidad de la vacuna contra la enfermedad. Luego de que se comenzó a usar extendidamente la vacuna, la incidencia cayó más del 80% a comparación de la época previa a la vacuna.
B. pertussis es un bacilo pequeño, aeróbico y gramnegativo. Es fastidioso y requiere medios especiales para su aislamiento.
B. pertussis produce múltiples productos antígenicos y biológicamente activos, incluyendo la toxina pertussis, hemaglutinina filamentosa, aglutinógenos, adenilciclasa, pertactina y ciclotoxina traqueal. Estos productos son responsables por las características clínicas de la enfermedad pertussis, y una respuesta inmune a estos o más produce inmunidad luego de la infección. La inmunidad luego de la infección por B. pertussis no parece ser permanente.
La pertussis es una enfermedad mediada por toxinas. Las bacterias se adhieren a los cilios de las células epiteliales respiratorias, producen toxinas que paralizan a los cilios y causan la inflamación del tracto respiratorio, lo que interfiere con la evacuación de las secreciones pulmonares. Los antígenos de la pertussis parecen permitir al organismo evadir las defensas del huésped, de modo que la linfocitosis es estimulada y la quimiotaxis es reducida. Hasta no hace mucho, se creía que la B. pertussis no invadía los tejidos. Sin embargo, estudios recientes muestran que la bacteria está presente en los macrófagos alveolares.
El diagnóstico de la pertussis está basado en una historia clínica característica (tos durante más de 2 semanas, con inspiración violenta, paroxismos o vómitos postusígenos) así como también en una variedad de test de laboratorio (cultivo, reacción en cadena de polimerasa [PCR], anticuerpos fluorescentes directos [DFA] y serología).
El abordaje de laboratorio y la selección de la metodología a emplear dependen, entre otras cosas, de la

edad del paciente y de su estado inmunológico, así:

• En los lactantes se prefiere el cultivo y/o PCR sobre todo cuando el cultivo no esté disponible, la serología no es recomendada.
• En niños cultivo y/ PCR en los no vacunados (primeros días de tos) o serología (si no se realizó vacunación en los últimos 3 años).
• En adultos se elige la serología (si no hubo vacunación en los últimos 3 años) y PCR como segunda opción.

El cultivo es considerado la prueba de diagnóstico usada como valor de referencia y es el test de laboratorio más específico para la pertussis. Sin embargo, los fastidiosos requisitos de crecimiento hacen a la B. pertussis difícil de cultivar. La merma en el cultivo puede ser afectada por técnicas de recolección, transporte y aislamiento de especímenes. Los especímenes de la nasofaringe posterior, no de la garganta, deben obtenerse usando Dacron* o hisopos de alginato de calcio (no algodón). Las tasas de aislamiento son mayores durante las primeras 3 o 4 semanas de la enfermedad (etapa catarral y etapa paroxística temprana). Los cultivos son positivos variablemente (30%-50%) y pueden tardar hasta 2 semanas, por lo que los resultados pueden obtenerse demasiado tarde para ser útiles clínicamente. La probabilidad de ser positivos decrece si los tests se realizan más tarde en la evolución de la enfermedad (más de 2 semanas después de la aparición de la tos) o en muestras clínicas de personas que recibieron antibióticos o fueron vacunados. Ya que los adolescentes y adultos normalmente tosen varias semanas antes de buscar ayuda médica, generalmente es muy tarde para que el cultivo tenga éxito. Debido a la elevada sensibilidad y agilidad en la obtención de resultados de PCR, muchos laboratorios están usando únicamente este método. PCR se debe usar además de, y no como un reemplazo del cultivo. Ningún producto PCR fue aprobado por la Administración de Alimentos y Drogas (FDA), y no existen protocolos estandarizados, reactivos o formatos de reporte para las pruebas de PCR de la pertussis. En consecuencia, los ensayos de PCR varían considerablemente entre laboratorios. La especificidad puede ser pobre, con un alto número de resultados falsos positivos en algunos laboratorios. Como el cultivo, PCR también es afectada por la recolección de muestras clínicas. Un hisopado nasofaríngeo obtenido en forma inapropiada probablemente resulte negativo, tanto en PCR como en el cultivo. PCR es afectada en menor medida por la terapia antibiótica previa, ya que el organismo no necesita ser viable para ser positivo por PCR. El uso seguido de cultivo es esencial para la confirmación de los resultados de PCR.
Las pruebas de DFA de muestras nasofaríngeas pueden ser útiles como pruebas de detección para la pertussis. El uso de tests de DFA monoclonal ha mejorado su especificidad, pero el DFA todavía tiene una baja sensibilidad y no debe ser considerado un criterio para la confirmación de laboratorio.
Las pruebas serológicas pueden ser útiles para adultos y adolescentes que presentan una evolución avanzada de la enfermedad, cuando tanto el cultivo y la PCR probablemente resulten negativos. Sin embargo, no existe una prueba de diagnóstico aprobada por la FDA. Las pruebas serológicas disponibles actualmente miden los anticuerpos que pueden resultar tanto de la infección como de la vacunación, por lo que una respuesta serológica positiva simplemente indica que la persona ha sido expuesta a la pertussis ya sea por una infección reciente o por una vacunación reciente o remota. Ya que la vacunación puede inducir tanto anticuerpo IgM e IgA (además de anticuerpos IgG), el uso de estos ensayos serológicos no puede diferenciar la infección de la respuesta a la vacuna. En ese momento, no se puede confiar en los resultados de las pruebas serológicas para confirmar una infección de pertussis.
En un cuadro clásico en niños, generalmente se presenta un conteo elevado de glóbulos blancos con linfocitosis. La cuenta absoluta de linfocitos normalmente llega a 20.000 o más. Sin embargo, puede no haber linfocitosis en algunos infantes y niños o en personas con casos leves o alterados de pertussis.

Definición de caso en menores de 6 meses: toda infección respiratoria aguda, con al menos uno de los siguientes síntomas: apnea, cianosis, estridor inspiratorio, vómitos después de toser o tos paroxística.
En mayores de 6 meses hasta 11 años: tos de 14 o más días de duración acompañado de uno o más de los siguientes síntomas: tos paroxística, estridor inspiratorio o vómitos después de la tos, sin otra causa aparente.
En mayores de 11 años: tos persistente de 14 o más días de duración, sin otra sintomatología acompañante.
Tuberculosis (TB) y Micobacteriosis: entidades clínicas producidas por Mycobacterium tuberculosis y

otros miembros del género Mycobacterium. Requieren de un laboratorio microbiológico especializado.

Micosis pulmonares: producidas por hongos que afectan el aparato respiratorio como Aspergillus spp., Coccidiodes spp., Paracoccidiodes spp., Histoplasma capsulatum.

Abscesos pulmonares: producidos por sinergismo de bacterias aerobias y anaerobias, se presentan con frecuencia en pacientes que se han bronco-aspirado. Las bacterias más frecuentemente aisladas pertenecen a la flora aerobia y anaerobia de la boca.
Afección pulmonar en el paciente inmunocomprometido: cualquiera de los microorganismos mencionados con anterioridad puede producir infecciones en el paciente inmunocomprometido (neutropénicos, transplantados). En el paciente seropositivo para el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) Pneumocystis jirovecii, un hongo, es el microorganismo que afecta con mayor frecuencia las vías aéreas inferiores. En este grupo las micobacterias medio-ambientales juegan también un papel preponderante.

Según el lugar donde se haya adquirido la infección pulmonar, las neumonías se clasificación en Neumonía de la Comunidad y Neumonía Nosocomial. Esta clasificación es importante ya que el agente etiológico varía, al igual entonces que el diagnóstico etiológico y la terapéutica antibiótica.
Cuadro de microorganismos más comunes productores de neumonías y neumonitis

Bacterias	Virus
S. pneumoniae	V. Influenza A y B
H. influenzae	V. Respiratorio Sincicial
Moraxella catarrhalis	V. Parainfluenza
Staphylococcus aureus	Enterovirus
Chlamydia spp.	V. Sarampión
Mycoplasma spp.	V. Varicela-Zoster
Nocardia spp.	V. Epstein-Barr
Legionella pneumophila	V. Herpes Simplex
Anaerobios	Citomegalovirus
Micobacterias	Metapneumovirus humano
	Coronavirus (229E, OC 43)

Agentes etiológicos más frecuentes de neumonías adquiridas en la comunidad (NAC), según diferentes grupos etarios:

Neonatos	
48 primeras horas	Streptococcus agalactiae, Bacilos Gram negativos,
48hs - 1 mes	Chlamydia trachomatis.
Niños de 1 mes a 5 años	
Virus Respiratorio Sincicial	
Virus Parainfluenza 1- 4	
Virus Influenza	
Adenovirus	
Metapneumovirus	
Streptococcus pneumoniae	
Haemophilus influenza	
Staphylococcus aureus	
Bordetella pertussis	
5 años a 35 años	
Mycoplasma pneumoniae	
Streptococcus pneumoniae	
35 a 65 años	
Streptococcus pneumoniae	
Mayores de 65 años	
Streptococcus pneumoniae	
Bacilos Gram negativos	
Haemophilus influenzae	
Virus Influenza	

Agentes etiológicos más frecuentes de neumonías nosocomiales (neumonías intrahospitalarias):
Klebsiella pneumoniae
Staphylococcus aureus
Pseudomonas aeruginosa
Escherichia coli
Acinetobacter baumannii

Diagnóstico de laboratorio
Hacemos referencia en este apartado a las muestras utilizadas para estudios microbiológicos más frecuentes, puntualizando sobre algunos aspectos especiales.

Diagnóstico bacteriológico de las infecciones respiratorias bajas

Neumonías típicas adquiridas en la comunidad (NAC).
Son consideradas muestras útiles para el diagnóstico microbiológico, las siguientes:
Esputo
Exudado nasofaríngeo (Virus-Chlamydia-Mycoplasma)

Líquido pleural
Punción transtraqueal
Punción pulmonar
Lavado bronquial
Lavado bronquioalveolar (BAL y miniBAL)
Cepillo protegido (CEP)
Biopsia a cielo abierto
Sangre (hemocultivo)
Suero

ESPUTO: si tuviéramos que decir que el esputo es la muestra más representativa de las infecciones de las vías aéreas inferiores, estaríamos mintiendo, pues como men-cionáramos las vías aéreas inferiores son normalmente estériles. De hecho, si imaginamos que la obtención de esta muestra se hace atravesando las vías aéreas superiores, concluimos que el esputo arrastra los microorganismos de la microbiota habitual de esta zona, razón por la cual no deberíamos considerarlo "la muestra".
Sin embargo, ocupa un lugar importante y debe solicitarse como muestra para estudio microbiológico en primer lugar, ya que es la de más fácil obtención; pues de este modo evitamos someter al paciente a otros métodos de obtención de muestras que son molestos y cruentos (invasivos).

Estudio bacteriológico del esputo
El valor diagnóstico del esputo en las neumonías bacterianas es variable.
Recolección de la muestra: el esputo para estudios bacteriológicos debe obtenerse en frasco estéril de boca ancha y por la mañana temprano, con esto facilitamos que las secreciones se hayan acumulado durante el sueño. Se explicará al paciente que la muestra a obtener debe ser representativa de las vías aéreas inferiores (VAI), tratando de arrastrar la menor cantidad de saliva posible. Si la muestra fuera para investigar tuberculosis la recolección se hará en forma seriada, es decir como mínimo dos mues-tras de esputo tomadas en días consecutivos, siempre por la mañana (overnight) y si la urgencia así lo requiere, en el momento de la consulta (spot).
Transporte y conservación de la muestra: el esputo para investigar bacterias habituales (no especiales: son aquellas bacterias que no requieren de un diagnóstico de laboratorio especializado, también conocidas como gérmenes comunes) debe ser enviado de inmediato al laboratorio para su procesamiento. Si por el contrario se quisieran investigar TB o micosis pulmonares las muestras de esputo pueden ser refrigeradas a 4-6 ºC hasta 7 días. En el caso de TB los frascos de envío de la muestra no necesa-riamente serán estériles, ya que durante el procesamiento de esta muestra se aplica una metodología que tiende a eliminar la flora colonizante y contaminante de la misma.
Procesamiento de la muestra: para investigar microorganismos habituales en esputo en primer lugar se realizará un examen directo (coloración de Gram) y de acuerdo a los resultados que éste arroje, se procederá como sigue:
Si en objetivo 10X se observaran más de 10 células epiteliales por campo y menos de 25 PMN (leucocitos polimorfonucleares) por campo, la muestra será NO APTA, es decir que posee mucha saliva y microbiota oral, entonces no es representativa del proceso pató¬geno que afecta al paciente. Este material no sirve para cultivo bacteriológico y por lo tanto se descarta.
Si en objetivo 10X se observaran más de 25 PMN por campo y menos de 10 células epiteliales por campo, la muestra será APTA. En este caso se procederá a la observación (con objetivo 100X de inmersión) de la flora bacteriana presente en la muestra.
Si el número de microorganismos presentes en la muestra (objetivo 100X) es variado, sin que ninguno de ellos se presente en mayor proporción respecto al resto, la muestra será APTA SIN PREDOMINANCIA DE GÉRMENES, es decir es representativa de las vías aéreas inferiores pero no existe un microorganismo que nos haga sospecharlo como agente de infección. En este caso la muestra se descarta, pudiendo solicitar al médico una nueva muestra.
Si por el contrario, habiendo sido APTA observara que en todos los campos un mismo microorganismo se presenta en mayor proporción, la muestra será APTA CON PREDOMINANCIA DE GÉRMENES, es decir que además de ser representativa podemos sospechar como causa de infección al microorganismo predominante. Es la única muestra que el laboratorio de bacteriología cultiva.
Con esta discrimación microscópica, logramos obtener muestras para cultivo en donde probablemente se pueda aislar al agente causal de la infección respiratoria de nuestro paciente. Esta discriminación sólo se realiza para la investigación de gérmenes comunes pero para el estudio de TB no es requisito esencial que la muestra sea apta con predominancia.
Para el cultivo se utilizan medios enriquecidos como por ejemplo: agar-sangre o agar-chocolate. Se hacen

siembras en cuatro estrías y se debe jerarquizar el desarrollo de bacterias. Se sugiere dar valor a los aislamientos que llegan puros entre la tercera y cuarta estría. El estudio se completa con la identificación y las pruebas de sensibilidad del agente aislado.
Las neumonías intrahospitalarias en pacientes internados en unidades de terapia intensiva con asistencia respiratoria mecaniza (ARM: respirador) merecen especial consi-deración por su elevada mortalidad. El diagnóstico bacteriológico es clave. Se realiza a través de un lavado broncoalveolar (estos pacientes no pueden expectorar por poseer un tubo endotraqueal). El examen directo sigue criterios similares al esputo. El cultivo de la muestra es cuantitativo (recuento de UFC).

Métodos de obtención de la muestra por Broncofibroscopía
Lavado broncoalveolar: el lavado broncoalveolar (BAL) es una muestra útil, de elevada sensibilidad y especificidad en pacientes que no han recibido tratamiento con antibacterianos. Su calidad se evalúa desde el punto de vista de las células. Un recuento de 104 UFC/ml se considera válido para el diagnóstico etiológico.

Cepillo protegido: es una muestra de escaso volumen que evita la contaminación. Es importante en el diagnóstico de neumonías por bacterias anaerobias. El recuento a 103 UFC/ml es considerado significativo.
Secreciones traqueales: es una muestra que debe tratarse en la coloración de Gram como si fuera un esputo. El cultivo se hace con diluciones considerándose el punto de corte de 106 UFC/ml.

Otros muestras para diagnóstico

Hemocultivos: Se recomienda la realización de hemocultivos en las neumonías graves del tracto respiratorio inferior que requieren hospitalización. La recolección de la muestra debe realizarse de acuerdo a lo descripto en el capítulo de Bacteriemias.

Orina: Se debe solicitar orina para la detección de antígenos. Las pruebas de antigenuria detectan la excreción renal de antígenos microbianos. En la actualidad, están disponibles comercialmente las pruebas para detección de antígenos de S. pneumoniae y L. pneumophila.

Neumonias atípicas adquiridas en la comunidad (NAC)
Las bacterias involucradas en esta patología se consideran especiales por sus características morfológicas y biológicas. Por esa razón los métodos directos habituales de diagnóstico como la visualización microscópica o el aislamiento en cultivos no es una práctica posible.
Muestras: lavado alveolar (BAL), esputo inducido, hisopado faríngeo, lavado faríngeo.
Procesamiento: estas muestras permiten un diagnóstico directo mediante inmunofluorescencia directa o técnicas de biología molecular (PCR).

Diagnóstico indirecto:
Muestras:
Suero: debe recogerse para confirmar un diagnóstico específico o cuando el patógeno sea difícil de detectar por métodos directos. Si es posible, deberá recogerse una muestra de suero en la fase aguda de la enfermedad para determinar anticuerpos IgM, IgA y otra en la fase de convalescencia (21 a 30 días después) para determinar la seroconversión de los anticuerpos IgG. Las pruebas serológicas son particularmente útiles para los agentes causantes de la neumonía atípica, M. pneumoniae, C. pneumoniae y Legionella spp. Además, la serología puede ser útil en combinación con otros métodos en el diagnóstico de la infección por microorganismos que pueden causar bioterrorismo, como Francisella tularensis y Yersinia pestis.

MICROBIOLOGIA REFLEXIVA
Una mirada hacia la complejidad de los fenómenos biológicos, que ayuda a crear caminos para entender con más profundidad la interacción virus o bacteria y célula.
Fibrosis quística
Es una patología genética autosómica recesiva cuya base es la mutación de un gen (símbolo de delta) F508 que condiciona la alteración en la composición de las secreciones de las glándulas exócrinas como pulmón, páncreas, hígado y otros órganos.
Clínicamente se manifiesta por sudoración salada, expectoración crónica y mala absorción por insuficiencia pancreática. Se diagnostica al nacer por el test del sudor.
En Argentina la expectativa de vida media es de 12 años aunque, adecuadamente diagnosticada y tratada, la sobrevida puede ser más larga. La deshidrata-

ción de las secreciones respiratorias, lleva a inflamación e infecciones persistentes, obstrucción crónica de las vías aéreas y daño pulmonar irreversible.
Los patógenos más importantes como agentes etiológicos son Pseudomonas aeruginosa, S. aureus, H. influenzae, Burkholderia cepacia.
Estas bacterias tienen la propiedad de producir biofilms que las protegen de la acción de los anticuerpos y los antimicrobianos. Estas infecciones se diagnostican con muestras de esputo, exudado de fauces y lavado broncoalveolar.

INFECCIONES RESPIRATORIAS VIRALES

Prácticamente todos los virus están adaptados para multiplicarse en el tracto respiratorio. Luego de la replicación inicial pueden seguir diferentes rutas patogénicas: (a) infección aguda con replicación limitada a la mucosa respiratoria, (b) infección aguda con diseminación sistémica, (c) infección persistente de la mucosa respiratoria.

La infección aguda con replicación limitada a la mucosa respiratoria es producida por los virus integrantes de la Familia Paramixoviridae: Parainfluenza 1, 2, 3 y 4, Virus Respiratorio Sincicial, Metapneumovirus humano; Familia Orthomyxoviridae: Virus Influenza A, B y C; Familia Coronaviridae: Coronavirus humano; Familia Picornaviridae: Rhinovirus. Estos virus poseen un período de incubación de pocos días (2 a 4 días). El corto período de incubación así como la infección localizada dan cuenta de una respuesta inmune sistémica que no es importante y tampoco suele ser útil para el díagnóstico. Lo que es más, algunos como el Virus Respiratorio Sincitial y Parainfluenza, pueden producir enfermedad por la respuesta inmune del huésped. El diagnóstico en términos generales se realiza por métodos directos, los indirectos son de poca utilidad. Cuando estos virus se diseminan lo hacen a través del tracto respiratorio avanzando por el epitelio.

La infección aguda con diseminación sistémica, cursa con una fase virémica, es producida por los virus integrantes de la Familia Paramixoviridae: Virus Sarampión, Virus de la Parotiditis; Familia Togaviridae: Virus Rubéola; Familia Herpesviridae: Varicela-Zoster, Virus Herpes Humano 6, Virus Herpes Humano 7, Citomegalovirus; Familia Arenaviridae: Virus Junín; Familia Parvoviridae; Familia Picornaviridae: Virus Polio y Familia Reoviridae.

La fase virémica da lugar a una buena respuesta inmune. Para el diagnóstico pueden utilizarse métodos directos e indirectos de diagnóstico.

La infección persistente de la mucosa respiratoria es producida por los virus de la Familia Herpesviridae: Epstein-Barr; Familia Adenoviridae y Familia Papovaviridae.

Infecciones localizadas	
Familias	**Virus**
Picornaviridae	Rhinovirus, algunos Enterovirus
Coronaviridae	La mayoría.
Paramyxoviridae	Virus Parainfluenza, Respiratorio Sincicial, Metapneumovirus humano.
Orthomyxoviridae	Virus influenza
Adenoviridae	La mayoría

Infecciones generalizadas	
Familias	**Virus**
Paramyxoviridae	Virus Sarampión, Parotiditis
Togaviridae	Virus Rubéola
Herpesviridae	Virus Varicela-Zoster
Picornaviridae	Enterovirus
Papovaviridae	Virus Polioma
Bunyaviridae	Virus Hantaan
Arenaviridae	Virus Junín

Diagnóstico virológico de las infecciones respiratorias bajas Bronquiolitis

El Virus Respiratorio Sincicial (VRS) es el principal patógeno en los primeros años de vida y durante el invierno es el responsable de la mitad de las bronquiolitis en niños.

En el año 2001 se identificó en Europa un nuevo virus al que se llamo Metapneumovirus humano y por sus características fue incluído en la familia Paramixoviridae. El primer caso en nuestro país fue descripto en el año 2004 y actualmente se lo considera la 2° causa de bronquiolitis en niños menores de 2 años.

Los Virus Parainfluenza e Influenza son otros agentes patógenos frecuentes de bronquiolitis.

El diagnóstico se realiza utilizando métodos directos de diagnóstico. No son utilizados con frecuencia para su diagnóstico los métodos indirectos (serológicos).

1. Recolección de muestras: Materiales: Aspirado nasofaríngeo, lavado nasal, hisopado faríngeo.

2. Métodos directos:

- Búsqueda de los antígenos virales mediante inmunofluorescencia en los materiales.
- Inoculación de los materiales en cultivos celulares.

Identificación posterior con anticuerpos específicos (neutralización, inmunofluorescencia, etc.)
- Detección de ácidos nucleicos virales en los materiales: reacción en cadena de la polimerasa (RCP).

Neumonías Virales

Las infecciones virales del tracto respiratorio inferior suelen afectar a niños, adultos inmunocomprometidos, adultos durante las epidemias de influenza o adultos con patología subyacente (bronquitis crónica, insuficiencia cardíaca). Los agentes etiológicos más comunes en niños en el primer año de vida son:

Virus Respiratorio Sincicial Virus Influenza
Virus Parainfluenza
Citomegalovirus
Coronavirus (CoV SARS)

En individuos inmunocomprometidos, los agentes virales más frecuentes son:

Citomegalovirus
Virus Sarampión
Virus Varicela-Zoster Adenovirus

Las neumonías por Virus Influenza pueden observarse:
a. durante los años epidémicos.
b. en individuos con una patología pulmonar o cardíaca subyacente.

Las infecciones por Virus Influenza o Sarampión incrementan la posibilidad de una superinfección bacteriana.
El Virus Sarampión disminuye la resistencia del epitelio respiratorio al ingreso de agen-tes patógenos. Una infección bacteriana secundaria como neumonía, otitis media o sinusitis puede establecerse con facilidad. En pacientes inmunodeprimidos e individuos desnutridos la infección viral adquiere particular virulencia. En determinados países de América Latina y de África la mortalidad por sarampión alcanza el 3-6%.
La mayoría de las muertes por Virus Influenza ocurren en la vejez como consecuencia de una infección bacteriana pulmonar (S. aureus, S. pneumoniae o H. influenzae) o por la descompensación de una condición crónica preexistente (bronquitis crónica, insuficiencia cardíaca, etc.). En la pandemia de influenza por Virus Influenza A en 1918 murieron 20 millones de personas, más que durante la Primera Guerra Mundial que recién finalizaba.
Muestras: Aspirado nasofaríngeo, lavado nasal, hisopado faríngeo. El VRS es un agen¬te muy lábil.
El diagnóstico se realiza utilizando los métodos directos como vimos en el diagnóstico de Bronquiolitis.

Coronavirus Humano

Pertenece a la familia Paramixoviridae, puede producir en los seres humanos afecciones que van desde el resfriado común hasta el síndrome respiratorio agudo severo conocido como SARS. Este síndrome se originó en Asia en 2003, después se difundió a Canadá y posteriormente se autolimitó espontáneamente.
Actualmente se ha identificado un nuevo Coronavirus que produce un cuadro severo de neumonía atípica y se lo denomina MERS-CoV, ya que ha sido identificado en países de oriente medio, principalmente Arabia Saudita pero actualmente se ha expandido a Europa (Reino Unido, Alemania e Italia).

Técnicas de Diagnóstico Rápido (TDR) para infecciones respiratorias

Como TDR se han considerado aquellas cuyo resultado pueda darse en menos de 7 h (un turno habitual de trabajo) en comparación con las técnicas convencionales de cultivo bacteriano (18–24 h) o viral (48 o más h). Las técnicas serológicas de detección de anticuerpos, aun entrando en esta definición temporal, no se han incluido, dado que demostrar la seroconversión (aparición de anticuerpos en el suero) o la seroconversión (aumento de 4 veces el título inicial de anticuerpos) puede tardar semanas o meses para producirse con grandes variabilidades interpersonales.
Algunas de estas TDR, dada la sencillez y rapidez de su realización, obtención e interpretación de los resultados, también podrán ser utilizadas como «point-of care test» (POCT) o «pruebas en el punto de atención» con el consiguiente beneficio para el paciente, que podría disponer del diagnóstico y en función del resultado, del tratamiento, en una misma consulta.
En general, el uso de TDR en el diagnóstico de la IR puede ayudar a:
• Disminuir el uso de antibióticos, dado que muchas de las IR son de etiología vírica.
• Utilizar terapia antivírica adecuada en casos concretos.
• Minimizar el uso de pruebas diagnósticas innecesarias.

• Disminuir el tiempo de estancia hospitalaria.
• Permitir, en caso necesario, una rápida implementación de medidas de aislamiento que limiten la transmisión nosocomial.

Además, en las infecciones respiratorias de origen bacteriano, las TDR, al detectar el antígeno del patógeno diana o sus ácidos nucleicos, se ven afectadas en mucha menor medida que el cultivo en el diagnóstico en caso de que ya se haya instaurado tratamiento antibiótico. Existen test rápidos de detección de infecciones de origen bacteriano, viral y fúngico.

Técnicas de diagnóstico rápido de la infección respiratoria por Streptococcus pneumoniae (S. pneumoniae) y Legionella pneumophila

S.pneumoniae es sin duda el patógeno que con mayor frecuencia causa NAC especialmente en las formas graves, cuando existe bacteriemia y riesgo para la vida del paciente. A diferencia de Legionella, la presencia de S. pneumoniae (neumococo) en una muestra respiratoria no es siempre indicativa de infección, ya que también es un colonizante habitual de las vías respiratorias altas lo que dificulta la interpretación de su diagnóstico.

Entre los TDR está la detección del antígeno neumocócico en orina. Estos tets detectan la presencia en la orina del polisacárido C de la pared celular del neumococo, antígeno común a los casi 100 serotipos diferentes de neumococo descritos hasta la actualidad y a otras especies relacionadas, como Streptococcus mitis y Streptococcus oralis.

Las legionelas forman un grupo de bacterias ubicuas en hábitats acuáticos que agrupan a más de 55 especies y de 70 serogrupos. La exposición a aerosoles que contienen las legionelas puede causar diferentes manifestaciones clínicas, desde la enfermedad del legionario (neumonía comunitaria grave), a la fiebre de Pontiac (síndrome febril autolimitado) o incluso a la infección asintomática. De todas ellas, la neumonía es la más importante por su frecuencia, alrededor del 2–6% de las neumonías adquiridas en la comunidad (NAC), gravedad de la enfermedad y la necesidad de un tratamiento específico con antibióticos macrólidos o fluoroquinolonas. Aunque se piensa que cualquier especie de Legionella puede causar enfermedad en el ser humano y que más de la mitad de los serogrupos se han aislado de muestras clínicas, la gran mayoría de las neumonías por Legionella están causadas por L. pneumophila serogrupo O1.

La dificultad y lentitud del crecimiento de las legionelas en medios de cultivo específicos y del tiempo para la seroconversión en el diagnóstico serológico han hecho que la mayoría de las técnicas diagnósticas habituales de la neumonía por L. pneumophila sean TDR. Estas se pueden clasificar entre las que utilizan anticuerpos y las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos, fundamentalmente la PCR.

La primera TDR para la legionelosis fue la inmunofluorescencia directa (IFD) sobre muestras respiratorias utilizando anticuerpos específicos de serogrupo marcados con fluoresceína. La IFD, que puede considerarse una TDR ya que se realiza en aproximadamente una hora, presenta una sensibilidad relativamente baja (60%) por lo que fue desplazada por los test de detección del antígeno de Legionella en orina.

Técnicas de detección de antígenos víricos

Entre ellas, se utilizan fundamentalmente las inmunofluorescencias (IF) directa e indirecta y las ICT (inmunocromatograía). Otras, como las técnicas inmunoenzimáticas de membrana, muy usadas en el pasado, han quedado en un segundo plano.

Por IF se pueden detectar los principales virus respiratorios. No obstante su correcta realización conlleva cierta dificultad. La necesidad de una citocentrífuga para hacer las extensiones, el fijar y teñirlas adecuadamente, el precisar la utilización de microscopio de fluorescencia para su visualización, la subjetividad en la interpretación del resultado (pericia del observador), ser muy dependiente de la calidad de la muestra (presencia de células epiteliales suficientes), y el tiempo en la obtención de resultados (entre 90–120 min) hace que esta técnica vaya siendo progresivamente menos utilizada para el diagnóstico inicial de una IR vírica en la mayoría de los laboratorios clínicos.

El uso de las técnicas clásicas de IF se puede mejorar y facilitar automatizando el proceso y realizando una lectura rápida y objetiva de la reacción. En este sentido se han desarrollado técnicas para detectar virus concretos de forma individual y otras que aumentan el panel de virus a detectar, que aparte de VRS y gripe, detecta Adenovirus, Virus Parainfluenza 1 a 4, Bocavirus, Metapneumovirus y bacterias como neumococo. Sus posibles ventajas, utilidades y relación coste-eficiencia se han descrito recientemente, existiendo aún muchas dudas al respecto33.

Dentro de los test ICT, los que revelan la reacción con oro coloidal son en la actualidad los más empleados. Su fácil realización (no requiere habilidades técnicas

especiales) y rápida ejecución (se obtienen resultados entre 10 y 20 min) y la sencilla lectura de los resultados contribuyen a difundir su uso como procedimientos a utilizar de forma rápida a la cabecera del paciente y en áreas de Urgencias. Son menos sensibles que la IF y a diferencia de ésta, que permite detectar un amplio abanico de virus respiratorios (VR), la mayoría de los dispositivos de ICT existentes están diseñados para detectar VRS y/o gripe A y B.

Con ICT se observa gran variabilidad en los resultados según el fabricante, la muestra que se utilice (se observan mucho mejores resultados de sensibilidad con aspirados/lavados nasofaríngeos que con muestras tomadas con escobillón), el tiempo de evolución de la enfermedad cuando se realiza la toma (mejor en las primeras 24 h) y sobre todo, en base a la población en la que se aplique (mucho peores resultados en población adulta que en pediátrica). En general, la sensibilidad de las técnicas ICT es mejor cuando se utilizan para detectar VRS que cuando se usan en el diagnóstico de gripe.

Técnicas de Amplificación de Ácidos Nucleicos (TAAN)

Las técnicas moleculares, fundamentalmente la PCR, son altamente sensibles y específicas y han sustituido al cultivo celular como método de referencia en el diagnóstico de las infecciones por VR. Además permiten detectar virus no viables o que no se han conseguido aislar en los cultivos celulares tradicionales. En general tienen un tiempo de respuesta superior a 24 h y requieren infraestructuras y equipamientos específicos y personal especializado, lo que limita su uso para diagnóstico rápido o en situaciones de urgencia. No obstante, en los últimos años se vienen desarrollando TAAN en diferentes formatos de fácil y rápida ejecución, sin pérdida de eficiencia respecto a los procedimientos moleculares clásicos. Con una mínima manipulación de la muestra y tras dispensarla en dispositivos individuales, realizan en un mismo equipo la extracción, amplificación y detección de los virus respiratorios.

Como sucede con las técnicas de detección de antígenos víricos (TDA), se han desarrollado comercialmente desde pruebas diseñadas para detectar un virus concreto (VRS y/o gripe) hasta «multiplex» capaces de detectar simultáneamente la mayoría de los posibles virus implicados en estos procesos. Todo ello en un tiempo en la obtención de resultados que varía entre 15 y 90 min, con mínima laboriosidad (alrededor de 2 min). En general estos dispositivos permiten procesar un número limitado de muestras a la vez, entre 1 y 8 según la plataforma. Otros sistemas utilizando tecnología Luminex permiten procesar hasta 96 muestras y detectar simultáneamente 22 patógenos diferentes (19 virus y 3 bacterias), obteniendo resultados en 4-5 h; pero la necesidad de utilizar tres equipos distintos en el procesamiento dificulta su uso como técnica rápida.

INFLUENZA

Se han registrado, desde hace cinco siglos, múltiples episodios de influenza en la historia de la humanidad, por lo que se han evidenciado 31 pandemias de influenza desde el año de 1580. En el período colonial se han reportado varios brotes epidémicos de influenza, a los que se les denominaban “epidemias de catarros o romadizo” y que han sido descritos por muchos historiadores, como en la Pandemia de 1781-1782 que afectó a Sudamérica. La pandemia con mayor mortalidad que ha sido documentada ocurrió a inicios del siglo XX; la denominada Gripe Española (H1N1), la que se inició en el año de 1918 y provocó tres oleadas epidémicas en todo el mundo, con una mortalidad de 21 millones de personas y más de medio millón de fallecimientos solo en los U.S.A. De la misma manera, el 24 de abril de 2009, la OMS emitió su alerta ante el aparecimiento de la que posteriormente, el 11 de junio del mismo año, se ha convertido en la primera pandemia del siglo XXI: la influenza porcina A/H1N1.

El virus influenza es un Orthomyxoviridae con un tamaño de 80 a 120 nm, cubierto con proteínas de superficie que se adhieren al aparato respiratorio y que aparece en la época invernal (zonas templadas) en forma de brotes epidémicos o pandémicos como el actual. Los virus influenza son de tres tipos: A, B y C. El virus A, presenta dos glucoproteínas de superficie muy variables: la hemaglutinina (H) con 16 subtipos y la neuraminidasa (N) con 9 subtipos, lo que explica su amplia variabilidad antigénica (ejemplos: H1N1, H5N3, H5N1). Es un virus ARN con un genoma de ocho segmentos e infecta a humanos, aves, cerdos y otros animales (aves acuáticas, caballos, focas, ballenas). El virus A es el principal agente etiológico de los brotes de influenza humana, lo sigue en menor importancia el virus B, en tanto que el virus C, no produce infección en los humanos. La variación antigénica

del virus puede ser de dos tipos: el desplazamiento antigénico gradual (drift antigénico) que afecta tanto a la hemaglutinina como a la neuraminidasa y la modificación genómica brusca (shift antigénico) que determina una modificación antigénica mayor, debido a la incorporación de un segmento completo de genoma de otra especie.

La OMS ha reportado que el virus de la influenza estacional es la causante en el mundo de 3 a 5 millones de casos anuales de infecciones graves asociadas a influenza y de 250.000 a 500.000 muertes. Los brotes de influenza estacional aparecen como picos en las estaciones invernales de las regiones templadas del planeta, en tanto que, en las zonas tropicales, los brotes se hallan relacionados con las épocas lluviosas. Epidemiológicamente estos brotes se hallan asociados a un exceso de hospitalizaciones, neumonías graves y muertes relacionadas con el brote de influenza; lo cual, como en la pandemia actual, genera una alta demanda de camas de hospitalización en los servicios hospitalarios y en las Unidades de Cuidados Intensivos para el manejo de neumonías y sus complicaciones. La pandemia de influenza A/H1N1, según el reporte Nº 75 de 20 de noviembre de 2009, ha contabilizado 526.060 casos, que han motivado 6770 (1,2 %) fallecimientos y diseminó en 206 países; siendo la región de las Américas la más afectada, con más del 36% de los casos del planeta.

La presencia del virus, tanto en las células del epitelio respiratorio, como en los macrófagos de la mucosa respiratoria, genera una tormenta de citoquinas proinflamatorias (interleuquinas, interferones, TNF) y factores quimiotácticos que desencadenan una respuesta inflamatoria desmesurada del tejido pulmonar, lo que lleva a la necrosis del epitelio respiratorio mediante mecanismos de apoptosis, acompañado de un proceso hemorrágico tanto de la vía respiratoria como del parénquima pulmonar. En el espacio alveolar se produce una abundante secreción de membranas hialinas, engrosamiento del septo alveolar, edema, hiperplasia de los neumocitos, necrosis bronquiolar e infiltrado inflamatorio de la íntima de los vasos sanguíneos de mediano calibre. Todo este proceso desencadena el Síndrome de Distress Respiratorio Agudo con un alto índice de morbi-mortalidad.

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico de influenza se realiza mediante: cultivo viral, detección de anticuerpos séricos, detección de antígenos virales y detección de los genomas del virus para determinar los subtipos del virus de la influenza.

Detección de Antígenos virales

El diagnóstico de laboratorio se sustenta predominantemente en la detección de las estructuras antigénicas del virus, la hemaglutinina o la neuraminidasa (H o N) obtenidas del exudado nasofaríngeo o de secreciones del tracto respiratorio. Éstas son de dos tipos:

-Pruebas rápidas. Detectan los antígenos de los virus influenza A o B. Tiempo: 30 minutos. Uso departamento de Urgencias. Sirve para excluir la influenza. Es un test de muy baja sensibilidad (40%), por lo que los resultados falsos negativos son muy altos (60%).

-Inmunofluorescencia directa. Detecta las variantes virus influenza A o B. Tiempo 2-4 horas.

Otras metodologías diagnósticas

-Serología. Detecta anticuerpos circulantes en sueros de pacientes convalecientes. Detecta anticuerpos en contra tipos A y B. Tiempo mayor a dos semanas.

-Cultivo viral. Depende de técnicas y laboratorios de alta complejidad, permite la detección de los virus A y B. Tiempo 5-10 días.

-PCR Tiempo real. Estudio confirmatorio, detecta las estructuras genómicas del virus y sus respectivos subtipos. Identifica los subtipos estacionales o pandémicos como el A/H1N1. Tiempo 1-2 días.

TUBERCULOSIS

Un poco de historia

"*Lo único que se sabía acerca de la tuberculosis, era que quizá fuera causada por alguna especie de microbio, puesto que los hombres enfermos podían transmitirla a los animales de experimentación. Un viejo francés, Millemin, pionero en esta investigación, y Cohnheim, el brillante profesor de Breslau, conseguían inocular la tuberculosis a los conejos introduciéndoles un fragmento de tejido enfermo en la cámara frontal del ojo, y podían vigilar la manera en que los pequeños islotes de tejido atacado, los tubérculos, se extendían y realizaban su mortífera labor. Era un experimento, sumamente ingenioso, que permitía observar el desarrollo de la enfermedad como a través de una ven-tana.*

Koch había estudiado detenidamente los experimentos de Cohnheim.

"Esto es lo que necesito -meditó. No podré experi-

mentar con seres humanos, pero sí puedo transmitir la enfermedad a los animales, cuando quiera... esta es una verdadera oportunidad para estudiar, para manejar, para buscar el microbio que origina la tuberculosis... porque tiene que haber un microbio...”

Koch puso manos a la obra; era tan sistemático y tan metódico que sus trabajos científicos producían escalofríos. Su primer material tuberculoso lo obtuvo de un obrero de treinta y seis años, hombre vigoroso que tres semanas antes gozaba de buena salud. De pronto, empezó a toser, a sentir leves dolores en el pecho, y el cuerpo se le consumió materialmente. A los cuatro días de haber ingresado al hospital, el pobre hombre, con el cuerpo acribillado de tubérculos, con todos los órganos salpicados de motas amarillo-grisáceas, como granos de mijo, dejó de existir.

Koch se puso a trabajar con este peligroso material, y solo, además, porque Löeffler se propuso encontrar el microbio de la difteria, y Gaffky estaba muy atareado tratando de descubrir al autor microscópico de la fiebre tifoidea. Entre dos bisturíes, previamente esterilizados, aplastó los tubérculos amarillentos del cuerpo del obrero muerto, reduciendo los gránulos a una pulpa finísima, y con una jeringa los inyectó en los ojos de muchos conejos y bajo la piel de manadas enteras de desprevenidos conejillos de India. Los colocó, después, a todos en jaulas limpias y los cuidó con todo esmero. Mientras aparecían los primeros síntomas de la tuberculosis, se dedicó a examinar, bajo el microscopio más potente de todos los que poseía, los tejidos enfermos del obrero muerto.

Pasaron los días sin que pudiera ver nada; su mejor microscopio, que tenía un aumento de muchos centenares de diámetro, sólo le mostraba los vestigios de lo que fuera un pulmón o un hígado sanos.

-Si existe el microbio de la tuberculosis, debe ser tan taimado y escurridizo que no me será posible verle en su estado natural; pero puedo teñir el tejido, y, quizá, así resaltará ese bicho...

Día tras día se pasó Koch tiñendo de café, de azul, de violeta, de casi todos los colores del arco iris, el material procedente del obrero muerto. Constantemente se mojaba las manos en bicloruro de mercurio, que se las ennegrecía y arrugaba. Untaba el temible material tuberculoso en cristales delgados y limpios, que luego sumergía durante varias horas en un fuerte tinte azul.

Una mañana, al sacar los cristales del baño de colorantes y enfocarlos con el microscopio, vio surgir de entre las destrozadas células pulmonares, unas masas curiosas de bacilos sumamente delgados, teñidos de azul, y tan finos que no podía calcular su tamaño, pero que tenían una longitud inferior a una milésima de milímetro.

-¡Qué hermosos!- murmuró -No son rectos, como los del carbunclo, sino que son ligeramente curvos.

-¡Cómo! Hay haces enteros, semejantes a paquetes de cigarrillos. ¡Ea! Aquí está, solitario, un diablo de éstos, dentro de una célula pulmonar. ¿Habré, por fin, encontrado el microbio de la tuberculosis?

Con toda precisión, con la eficiencia que lo caracterizaba, continuó Koch tiñendo tubérculos de todas las partes del cuerpo del hombre muerto, y en todos ellos el tinte azul

hacía destacar a los mismos bacilos, sutiles y curvos; seres extraños que en nada se asemejaban a los que había visto en los millares de hombres y animales sanos y enfermos cuyas entrañas había observado. Entre tanto, a los conejillos de India y a los conejos, empezaron a ocurrirles cosas desagradables. Entristecidos, los conejillos se agru-paban en los rincones de las jaulas con el pelo erizado, y sus cuerpos se consumían hasta quedar reducidos a un saco de huesos. Tenían fiebre, dejaban de moverse, desairaban las apetitosas zanahorias y el heno fresco y, uno tras otro, fueron muriendo. A medida que iban pereciendo estos mártires inconscientes, víctimas de la loca curiosidad de Koch y en aras de la humanidad doliente, el pequeño cazador de microbios los clavaba en la tabla de disección, les empapaba la piel en bicloruro de mercurio y, reteniendo el aliento y con toda precisión, los abría con bisturíes esterilizados. Los mismos tubérculos siniestros, de color gris amarillento, que habían infectado el cuerpo del obrero muerto, aparecieron en todos aquellos pobres animalillos. Sumergió en el baño azul los consabidos cristales, y en todos ellos descubrió los mismos bastoncitos curvos y terribles que aparecieran ante sus atónitos ojos cuando se le ocurrió teñir los trozos de pulmón del obrero muerto.

-¡Lo tengo, por fin lo logré!- murmuró.

Y obligando al afanado Löeffler y al fiel Gaffky a abandonar sus trabajos, les dijo:

-Miren ustedes: hace seis semanas introduje en este animalito un pequeñísimo fragmento de tubérculo que no contenía más que unos cuantos centenares de bacilos, y ahora me encuentro conque se han convertido en billones. Son tan endemoniados estos micro-

bios, que desde la ingle del conejillo se esparcieron por todo el cuerpo, royendo cuanto encontraban a su paso; y atravesando las paredes de las arterias han sido arrastrados por la sangre hasta los mismos huesos, hasta la región más recóndita del cerebro.

Después de esto, se dedicó a recorrer los hospitales de Berlín solicitando los cadáveres de hombres y mujeres fallecidos de tuberculosis. Se pasó lúgubres y monótonos días en los depósitos de cadáveres, y noches enteras, en su laboratorio, ante el microscopio, en medio de un silencio sólo interrumpido por los espeluznantes ruidos y las carreras de los conejillos de India. Con los tejidos enfermos de los cuerpos victimados por la tuberculosis, inoculó a centenares de conejillos de India, conejos, tres perros, trece gatos de afiladas zarpas, diez gallinas y doce palomas. No contento aún continuó esta inoculación masiva con ratones blancos, ratas, ratones de campo y dos marmotas. En toda la historia de la microbiología, no ha habido otro caso de minuciosidad más aterradora.

-¡Ah! Este trabajo me afecta un poco los nervios- murmuraba, recordando quizá, que uno de los gatos con un movimiento rápido, le hizo clavarse en la mano la aguja de la jeringa llena de microbios.

Koch, en la persecución solitaria de sus invisibles enemigos, estaba, siempre, no sólo al borde de descubrimientos estimulantes sino también de peligros fatales.

Pero la mano de este hombre pequeño, de aspecto común jamás falló, sólo se fue resecando y ennegreciendo a fuerza de los incesantes baños de bicloruro de mercurio, con el cual, en aquellos días, esos bacteriólogos experimentales acostumbraban desinfectar todo, incluyendo sus propias personas. Semana tras semana, en toda aquella serie de animales maulladores, ladradores y cacareadores que había reunido Koch, los curvos bastoncitos se fueron transformando, inexorablemente, en millones. Uno por uno fueron muriendo todos, por lo que necesitaban dieciocho horas de trabajo diario para hacer disecciones y exámenes microscópicos.

-Sólo cuando los hombres o los animales están tuberculosos aparecen estos bastoncitos teñidos de azul- decía Koch a Löeffler y Gaffky, -jamás los he encontrado, y a ustedes les consta cuántos cientos he examinado, en los animales sanos.

-Esto prueba, indudablemente, que usted ha descubierto el bacilo causante de la enfermedad.

*-No, aún no. Lo que he hecho podría bastarle a Pasteur, pero a mí no me convence del todo. Tengo que extraer esos bacilos de los cuerpos de los animales moribundos, multiplicarlos en gelatina de caldo de carne para obtener colonias puras, cultivarlas durante meses enteros fuera del contacto de todo ser viviente. Si después, al inocular estos microbios a animales sanos, éstos contraen la tuberculosis...**

Löeffler y Gaffky, avergonzados por haber sacado conclusiones tan precipitadas, retornaron, reverentes, a sus propias investigaciones.

Ensayando todas las combinaciones posibles que se le ocurrían, se dedicó Koch a intentar el cultivo de colonias aisladas. Preparó una docena de medios diversos, mantuvo las probetas y los matraces a la temperatura ambiente, a la del cuerpo humano y a la de la fiebre. Ingeniosamente empleó pulmones de conejillos de India pletóricos de bacilos, pulmones libres de cualquier otra especie microbiana que al multiplicarse pudieran destruir los delicados gérmenes que él creía eran los causantes de la tuberculosis. Arrostrando grandes peligros, sembró trozos de estos pulmones en centenares de tubos y matraces. Todo en vano: aquellos frágiles bacilos, que crecían en los cuerpos de los animales enfermos como la maleza en los bosques tropicales, esos microbios, que se contaban por millones en los tuberculosos, desdeñaban los buenos caldos y las gelatinas con que Koch los obsequiaba. No obtenía ningún resultado.

Un buen día, Koch comprendió la razón de sus fracasos.

"Probablemente, estos bacilos de la tuberculosis son parásitos totales, que sólo crecen en el cuerpo de los seres vivos. Tengo que prepararles un medio nutritivo que se asemeje, lo más posible, a la composición de un ser vivo."

Fue así como Koch inventó su famoso medio de cultivo: la gelatina de suero sanguíneo para aquellos microbios que no se reproducen en los medios de cultivo corrientes. Las carnicerías lo proveyeron de suero fresco, color pajizo, procedente de las reses sanas recién sacrificadas, y que calentó, cuidadosamente, para destruir todos los microbios extraños con que pudiera estar contaminado. Con delicadeza, vertió el suero en una docena de probetas, colocándolas inclinadas para aumentar las superficies en que sembraría los tejidos procedentes de animales tuberculosos. Después calentó cada tubo lo suficiente para que el suero se solidificase en una gelatina perfectamente transparente.

Aquella misma mañana había muerto un conejillo de India, tuberculoso en grado máximo, del que extrajo

Koch un par de tubérculos amarillo-grisáceos. Con este material, infectado de bacilos, y valiéndose de un alambre de platino, frotó la superficie húmeda de la gelatina de suero; y con ese suspiro de alivio de quien ha terminado una labor desagradable, llevó los tubos al horno de cultivo, mantenido a la temperatura exacta del cuerpo de los conejillos de India.

Día tras día, por la mañana, corría Koch, expectante, al horno, y sacando los tubos los aproximaba a sus gafas de oro, sin que descubriera cambio alguno.

-Bueno, un fracaso más -murmuró al cumplirse los catorce días de la siembra del tejido tuberculoso. Todos los demás microbios que he cultivado se han multiplicado abundantemente en un par de días, pero aquí, ¡maldición!, no hay nada, absolutamente nada.

Cualquier otro que no hubiera sido Koch, habría tirado aquellos tubos estériles, motivo de tanta desilusión; pero el demonio, que poseía a este médico rural de barba hirsuta, le sugirió al oído:

-Espera, ten calma. Sabido es que los gérmenes de la tuberculosis necesitan, a veces, meses enteros y aún años para matar a los hombres. Quizá, también, sean muy lentos para multiplicarse en los tubos de suero.

Koch no tiró los tubos, y al revisarlos al decimoquinto día halló la superficie aterciopelada de la gelatina de suero cubierta de pequeñas motas. Con mano temblorosa, tomó la lupa, y al examinar un tubo tras otro, encontró en todos las mismas motitas brillantes que, bajo la lupa, parecían pequeñas escamas secas. Como en trance, arrancó el tapón de algodón de uno de los tubos, caldeó mecánicamente la boca en la llama del mechero de Bunsen, y con un alambre de platino extrajo una de aquellas colonias escamosas -tenían que ser microbios- y, sin saber ni cómo, se encontró frente al microscopio.

Entonces supo que el árido camino de su aventura había llegado a un refugio acogedor: aquí estaban, miríadas incontables de aquellos bastoncitos retorcidos, idénticos a los que había descubierto inicialmente en los pulmones del obrero víctima de la tuberculosis. Estaban inmóviles, pero seguramente vivos y multiplicándose- eran delicados, sutiles y quisquillosos para la comida, pero más salvajes que las hordas de Hunos y más mortíferos que diez mil nidos de víboras de cascabel.

Koch confirmó este primer éxito a través de meses de tensa y extenuante labor experimental, comprobándolo todo con una paciencia y una meticulosidad que casi me mareo al leer el número de experimentos, repetidos al infinito, que figuran en su reporte clásico sobre la tuberculosis. En los tubos de gelatina de suero, Koch obtuvo cuarenta y tres familias diferentes de bastoncitos mortíferos, extraídos de monos, bueyes y conejillos de India tuberculosos.

Sólo de los animales atacados o muertos de tuberculosis podía obtenerlos. Durante meses enteros cuidó de aquellos diminutos asesinos, trasvasándolos de tubo a otro, atento a que ningún otro microbio extraño se entremezclara.

Ahora inyectaré estos bacilos, estos cultivos puros de bacilos, a conejillos de India sanos, a toda clase de animales sanos, y si logro que se enfermen de tuberculosis sabré, a ciencia cierta, si son los causantes de esta enfermedad.

Aquel hombre, con la determinación terrible de un maniático impulsado por una idea fija, transformó su laboratorio en un extraño parque zoológico. Se volvió huraño con todos. Para los visitantes curiosos, era un pequeño ogro alemán, sarcástico y malévolo. Solo, sin ayuda de nadie, esterilizó baterías de jeringas, e inyectó a conejillos de India, conejos, gallinas, ratas, ratones y monos, las ondulantes masas de microbios cultivados en los tubos de gelatina de suero, diluidas en un poco de agua destilada.

-No basta con esto -gruñía-, tengo que ensayar en algunos animales que, según se sabe, no contraen la tuberculosis.

Se hizo traer al laboratorio tortugas, golondrinas, cinco sapos y tres anguilas para inyectarles sus amados y terribles bacilos. Como un demente completó estos fantásticos ensayos, inoculándoselos también a un pez dorado.

Pasaron los días, transcurrieron las semanas, y al entrar Koch, por la mañana, a su laboratorio, se dirigió directamente a las jaulas y tarros donde estaban los animales. El pez dorado seguía abriendo y cerrando la boca mientras nadaba, plácidamente, en la esférica pecera; los sapos croaban despreocupadamente, y las anguilas conservaban su escurridiza viveza; la tortuga sacaba, de vez en cuando, la cabeza de su concha, y parecía guiñar el ojo a Koch, como diciéndole: "Me gustaron mucho tus bichos; dame más".

Pero, mientras que las inyecciones no causaron ningún efecto en estos animales, normalmente inmunes a la tuberculosis, los conejillos de India, en cambio, comen

zaron a decaer, a echarse lastimosamente y a respirar con dificultad. Uno a uno fueron muriendo, con

los cuerpos convertidos en un cúmulo de tubérculos.
Koch había forjado el último eslabón en su cadena experimental y se disponía a lanzar la noticia al mundo (¡finalmente ha sido descubierto; ha caído en la trampa el bacilo que es el verdadero causante de la tuberculosis!), cuando pensó que aún le faltaba algo por hacer.
"Seguramente que las personas pescan estos bacilos al aspirarlos con el polvo del aire, o de la tos de los tuberculosos. ¿Podrán contagiarse, del mismo modo, los animales sanos?"
Inmediatamente se puso a discurrir la manera de ejecutar un experimento, bastante desagradable, por cierto.
"Tengo que someter a los animales a una lluvia de bacilos procedentes de los cultivos"- pensó; pero esto implicaba un peligro mucho mayor que soltar de la cárcel a diez mil asesinos.
Como buen cazador que era, resolvió correr el riesgo de aquel peligro ineludible. Construyó una gran caja, que colocó en el jardín, y dentro de ella puso unos cuantos conejillos de India, ratones y conejos. Por la ventana del laboratorio sacó un tubo de plomo que terminaba, dentro de la caja, en un atomizador, y cada día de los que siguieron dedicó media hora a manejar un fuelle con el que lanzaba adentro de la caja, una mortífera neblina de bacilos para que fuera aspirada por sus juguetones ocupantes. A los diez días, tres de los conejos respiraban con dificultad, luchando por aquel aire precioso que sus pulmones no podían ya proporcionarles; a los veinticinco días, los conejillos de India, habían cumplido su humilde papel: todos habían muerto de tuberculosis.
Koch no menciona la difícil tarea de sacar los cadáveres de aquellos animales de la caja empapada de bacilos. Yo, en su lugar, hubiera preferido abrir un cajón lleno de boas constrictoras. Tampoco nos describe la manera en que se deshizo de aquella caja, cuyas paredes estaban impregnadas de la lluvia letal. ¡Cuántas ocasiones para adoptar actitudes heroicas perdió este hombre tan modesto!
El 24 de marzo de 1882, la Sociedad de Fisiología de Berlín celebró su sesión en una sencilla sala, que resplandecía con la presencia de los hombres de ciencia más destacados de toda Alemania, entre ellos Pablo Ehrlich y el eminente profesor Rodolfo Virchow -el mismo que antes se había mostrado despectivo con Koch y con sus pretendidos bacilos patógenos, considerándolo como un chiflado-; y la mayoría de los más famosos médicos alemanes.
Un hombrecillo, arrugado y con gafas, se puso de pie, y metiendo la cara entre los papeles que llevaba empezó a hablar con voz ligeramente trémula. Robert Koch, con modestia admirable, relató lisa y llanamente, cómo había logrado encontrar al asesino terrible de una de cada siete personas que morían. Sin actitudes declamatorias, les dijo a estas eminencias que los médicos podían ya conocer las costumbres del bacilo de la tuberculosis, el enemigo más pequeño e implacable de la Humanidad. Les describió sus escondrijos, sus fuerzas, sus debilidades, mostrándoles cómo se podría emprender una cruzada para aplastar, para eliminar completamente a este enemigo mortal y microscópico. Por fin, después de haber terminado, Koch se sentó, en espera de la discusión, aguardando los inevitables comentarios y objeciones con que siempre se reciben los asertos revolucionarios. Pero nadie se levantó, nadie pidió la palabra, y todas las miradas se clavaron en Virchow, el oráculo, el Zar de la ciencia alemana, el fulminador que, con un simple gesto, había derribado grandes teorías sobre las enfermedades.
Todas las miradas estaban fijas en Virchow, quien se limitó a ponerse el sombrero, levantarse y abandonar la sala, ya que no tenía nada que decir.
Si doscientos años antes, el viejo Leeuwenhoeck hubiera hecho un hallazgo tan trascendental como éste, habrían transcurrido meses enteros para que la Europa del siglo XVII se enterara de las novedades; pero en 1882, la noticia de que Koch había descubierto el microbio de la tuberculosis trascendió aquella misma noche en la sala de reunión de la Sociedad de Fisiología, y fue transmitida por cable a Kamchatka y a San Francisco, y apareció a la mañana siguiente, como noticia sensacional, en la primera plana de todos los diarios. El mundo entero enloqueció; los médicos asaltaron vapores y trenes en dirección a Berlín, para conocer, del mismo Koch, el secreto de la caza de microbios. Cientos de médicos acudieron a postrarse a los pies de Koch, deseosos de aprender a preparar la gelatina de suero y a inyectar con jeringuillas, llenas de microbios, a los vivaces conejillos de India.
Las hazañas de Pasteur habían puesto a Francia de cabeza, pero los experimentos de Koch con los peligrosos bacilos de la tuberculosis, hicieron que la tierra temblara en sus cimientos. Koch, sin embargo, despedía a sus admiradores diciéndoles:
-Éste, mi descubrimiento no es un avance tan grande como ustedes creen.

Así trataba de huir de sus admiradores y de esquivar a los adeptos ávidos por aprender, para ocupar sus ratos libres en nuevas y propias investigaciones. Aborrecía la enseñanza, exactamente como Leeuwenhoeck, pero, imprecando entre dientes, se veía obligado a dar lecciones de microbiología a japoneses que hablaban un alemán horrible y lo entendían aún menos; y a norteamericanos que nunca llegarían a tener la cantidad de cazadores de microbios. Emprendió una lucha titánica contra Pasteur, aconsejando a Gaffky, su ayudante, para que lograra espiar y seguirle la pista al bacilo de la fiebre tifoidea. Se vio forzado a recibir medallas y a asistir a tediosas recepciones, de las que se escapaba para dar consejos también a Löeffler, su ayudante de los bigotes enhiestos, que en aquel entonces andaba tras el microbio que destila el veneno de la difteria. Estos fueron los resultados de su sencillo y maravilloso método de cultivo de microbios en un medio nutritivo sólido. "Koch sacudió el árbol de los descubrimientos, y éstos le cayeron en su regazo", dijo Gaffky más tarde.

En ningún escrito de Koch encontré prueba alguna de que se considerara el gran descubridor. Al contrario de Pasteur, jamás parece haberse percatado de que dirigía una de las batallas más hermosas y emocionantes de las sostenidas por el hombre contra la naturaleza cruel; aquel hombrecillo, de barba desordenada, no era un actor. Pero, en cambio, promovió una lucha dramática contra los mensajeros de la muerte. Hubo bacteriólogos que casi llegaron a extremos suicidas y hasta asesinos, en su afán por demostrar que los microbios eran la causa de peligrosas enfermedades".

("Los Cazadores de Microbios". 1938 De Kruif, Paul. Ed. Mexicanos Unidos).

Roberto Koch

La historia de la tuberculosis suele asociarse con el siglo pasado; lo más cercano a nuestra memoria es lo perpetuado por la Dama de las Camelias, aquella débil y blanca mujer de figura fatigada que protagonizó una terrible historia de amor.

No obstante, la tuberculosis no es una enfermedad ajena a la actual historia de los pueblos. El incremento de las enfermedades respiratorias está directamente relacionado con una calidad de vida inapropiada y con carencias de tipo social y económica. Mientras se avanza hacia un mundo cada vez más interrelacionado es evidente que la perduración del subdesarrollo es incompatible con la estabilidad y el progreso del conjunto de las naciones. El problema no se limita pues a las zonas más relegadas sino que se convierte en una amenaza general, y ello convoca a reflexiones que van muchomás allá de lo estrictamente sanitario. No hay nada de misterioso en la propagación de la tuberculosis. El avance de este mal es un índice de las malas condiciones higiénico-sociales de una comunidad, señala un malestar grave, un auténtico derrumbe de la calidad de vida.

TUBERCULOSIS

La tuberculosis (TB) sigue siendo, ya bien entrados en el siglo XXI, la enfermedad infecciosa humana más importante. Las pésimas cifras actuales de infectados (2.300 millones), enfermos (9 millones nuevos anuales) y fallecidos (1,5 millones anuales) por esta vieja endemia obligan a una profunda reflexión de qué está fallando en el control de una enfermedad curable desde hace más de 50 años y prevenible desde hace ya varias décadas. Y es que la TB se puede diagnosticar de una manera relativamente sencilla y barata; y se puede curar en la gran mayoría de los casos con tratamientos baratos y bien tolerados. Además, se estima que de los 9 millones de enfermos que se producen anualmente, cerca de medio millón son portadores de una TB con resistencia a la isoniazida y la rifampicina (TB multifarmacorresistente [TB-MFR]), casos muy difíciles de curar pues son los dos fármacos más eficaces contra la enfermedad. Es obvio que se necesitan nuevos recursos diagnósticos y terapéuticos si se quiere intentar controlar esta epidemia, incluyendo la TBMFR. Estos recursos han aparecido en la última década. Recordemos que el 24 de marzo 1882, Robert Koch, médico alemán, presentó ante la Sociedad de Fisiología de Berlín al agente etiológico de la TB, el tan conocido bacilo de Koch o Mycobacterium tuberculosis. El mismo Dr. Koch nunca imaginó que aún cien años después de su aislamiento estaríamos investigándolo como causa frecuente de infección respiratoria baja. El Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) vuelve a reflotar los estudios de prevención, diagnóstico y tratamiento de la TB.

La enfermedad afecta prácticamente todos los órga-

nos de la economía, sin embargo su localización más frecuente en la población general es la forma pulmonar (85-90%). Las formas extrapulmonares (líquido pleural, ganglios, riñón, hueso y articulaciones, meninges, piel, intestino) y las formas diseminadas (sangre), se presentan con mayor frecuencia en pacientes inmunocomprometidos.

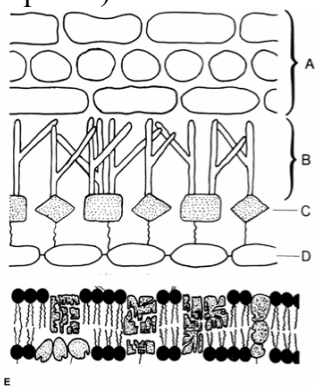
Frente a un paciente que consulte por tos con expectoración, fiebre vespertina (por la tarde) de 37.5 ºC, nunca mayor; pérdida de peso, astenia y anorexia por más de 15 días se debe sospechar Tuberculosis.

El agente etiológico es el COMPLEJO TUBERCULOSIS constituido por las siguientes especies: Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium bovis, Mycobacterium africa-num y Mycobacterium microtii, todos pertenecientes a la familia Mycobacteriaceae y al orden de los Actinomycetales. A este orden pertenece un grupo importante de microor-ganismos, que en un principio se reconocieron como hongos por la presencia de una hifa aérea y las patologías crónicas que producen (Actinomyces spp., Nocardia spp., Streptomyces spp., Rhodococcus spp.)

La mayoría se caracterizan por ser B.A.A.R. (bacilos ácido-alcohol resistentes), carac-terística que le confiere su específica pared celular constituida por ácidos micólicos. Estos ácidos micólicos son de cuatro tipos diferentes: I, II, III y IV. La ácido-alcohol resistencia es directamente proporcional a la combinación de estos tipos de ácidos micólicos. Cuanto mayor es la frecuencia en tipos, mayor es la ácido-alcohol resisten-cia. En términos generales las micobacterias son verdaderamente ácido-alcohol resis-tentes, mientras que los géneros restantes son llamados parcialmente ácido-alcohol resistentes.

Pared celular de B.A.A.R. pertenecientes al género Mycobacterium

La pared celular de las micobacterias está constituida por las siguientes estructuras moleculares (como se muestran en el esquema):



A- Factor cuerda
B- Ácidos micólicos
C- Arabino-galactano
D- Peptidoglicano
E- Membrana citoplasmática

Mycobacterium tuberculosis es un bacilo ácido-alcohol resistente (B.A.A.R), aerobio estricto y de lento desarrollo (su tiempo de división celular es de aproximadamente 18 a 20 horas).

Diagnóstico epidemiológico de la infección tuberculosa

Hasta hace escasamente 10-15 años tan solo se disponía de una herramienta para poder realizar el diagnóstico de la infección TB, la denominada prueba de la tuberculina (PT), PPD o Mantoux. Sin embargo, por los inconvenientes que tiene la PT y por su desabastecimiento en extensas zonas del mundo, se empezó a trabajar con otras técnicas basadas en la liberación de interferón-gamma (interferon-release assays o IGRA) frente a la exposición a antígenos específicos del M. tuberculosis. La PT pone de manifiesto un estado de hipersensibilidad del organismo frente a las proteínas del bacilo tuberculoso que se adquiere, la mayoría de las veces, después de una infección por M. tuberculosis, aunque también puede ser ocasionado por vacunación BCG o infección por micobacterias ambientales. En individuos infectados, aunque nunca hayan estado enfermos, la tuberculina da lugar a una reacción inflamatoria con una importante infiltración celular de la dermis que produce una induración visible y palpable en la zona, pudiéndose acompanar de edema, eritema y, en raras ocasiones, vesiculación, necrosis y linfadenitis regional. La positividad aparece entre 2 y 12 semanas después de la infección, por lo que existe un fenómeno ventana durante ese tiempo que puede obligar a repetir la prueba. El resultado se expresa en milímetros de induración; y un diámetro ≥ 5 mm se considera positivo. La PT debe limitarse a los niños e inmunodeficientes con sospecha de enfermedad TB, así como para el diagnóstico de infección en sujetos inmunodeprimidos, convivientes íntimos de enfermos con TB y personal sanitario para detectar a los convertidores recientes. La práctica de la PT con fines diagnósticos en adultos que presentan síntomas respiratorios carece de fundamento. Por otra parte, en la actualidad se están empleando dos pruebas IGRA. La primera y más usada mide, por medio de un ELISA, la cantidad de interferón gamma que se libera en

la sangre del sujeto al ser expuesta a antígenos específicos de M. tuberculosis. Si el suero pertenece a un paciente previamente infectado por M. tuberculosis, los linfocitos T de memoria responden a esta estimulación antigénica y liberan interferón gamma. Por el contrario, si el paciente no ha sido previamente infectado, su suero no reaccionará ni liberará interferón gamma, resultando la prueba negativa. La única prueba comercializada se denomina Quantiferon TB Gold, que utiliza los antígenos Esat 6, CFP10 y TB 7.7. Permite diferenciar los individuos infectados por M. tuberculosis de aquellos sensibilizados por la vacuna BCG (que perdió estos antígenos durante su elaboración) o por la mayoría de las micobacterias ambientales. Si el resultado es superior a 0,35 se considera positivo, y si es inferior negativo. La segunda técnica, mucho menos usada y aún no comercializada, utiliza un ELISPOT (variante de ELISA) para detectar las células monocíticas que responden a esta estimulación antigénica.

Diagnóstico de laboratorio

1. Recolección de la muestra: la toma de la muestra y el tipo de muestra corresponde-rán al sitio de localización de la patología. Para la forma pulmonar mencionamos al esputo. Se tomarán como mínimo dos muestras de esputo (muestras seriadas) en días sucesivos. La razón por lo que se solicita más de una muestra es porque no siempre se encuentran bacilos en el esputo debido a que no todas las lesiones tuberculosas poseen salida al exterior con la consecuente eliminación de bacterias. Si el paciente no pudiera expectorar se podrán tomar muestras mediante hisopado faríngeo seriado (no menos de seis, se emplea especialmente en niños) o lavado gástrico en ayunas (se emplea especialmente en mujeres que tienden a tragar las secreciones).
2. Envío y conservación de la muestra: debe enviarse al laboratorio lo más pronto posi-ble pudiéndose conservar en heladera (4-6ºC) y protegida de la luz hasta una semana, excepto las muestras de orina y lavado gástrico que deben ser procesadas de inme-diato o neutralizadas con carbonato de calcio para mantenerlas en heladera.
3. Procesamiento de la muestra:

• Examen directo o Baciloscopía: recordemos que la pared celular de las micobacterias es especial, por lo que es imposible visualizarlas con la coloración de Gram. Es por ello que la visualización debe realizarse empleando una coloración especial:

Coloración de Ziehl-Neelsen: ha sido creada para B.A.A.R. y se realiza en 4 pasos, una vez extendida y fijada la muestra:

· Cubrir el extendido con Fucsina fenicada de Ziehl y dejar actuar durante 5 minutos
· Calentar el extendido pasando una llama por debajo del preparado tres veces con-secutivas, en cada uno de los intervalos que deben hacerse entre vez y vez; debe observarse el desprendimiento de vapores blancos, sin dejar que la fucsina hierva (el calor se usa como mordiente).
· Lavar el colorante con agua de canilla.
· Decolorar con alcohol-ácido.
· Lavar con agua de canilla.
· Agregar azul de metileno (contracolorante) durante 1 a 3 minutos.
· Lavar con agua.

Interpretación: Los B.A.A.R. se observan como bacilos rojos sobre un fondo azul. Sólo aquellos microorganismos que posean en su pared celular ácidos micólicos podrán teñirse, el resto de los microorganismos y células presentes en la muestra forman parte de ese fondo azul.
Fundamento: los ácidos micólicos se unen a la fucsina fenicada de Ziehl en forma estable, resistiendo al paso de decoloración. Aquellos microorganismos que resulten par-cialmente ácido-alcohol resistentes deberán ser teñidos con otras coloraciones (colo-ración de Kinyoun, coloración de Gram).
La técnica de observación se conoce con el nombre de Baciloscopía y su informe dependerá del número de B.A.A.R. presentes por campo microscópico observado en objetivo de 100X, como sigue:

· NEGATIVO: no se observan BAAR por campo en 200 o más campos observados.
· POSITIVO +: menos de 1 BAAR por campo en 100 campos observados.
· POSITIVO ++: entre 1 y 10 BAAR por campo en 50 campos observados.
· POSITIVO +++: más de 10 BAAR por campo en 20 campos observados.

La baciloscopía positiva permite detectar una tuberculosis abierta (diagnóstico etiológi¬co) es decir que el paciente está eliminando bacilos y por ende contagia de tal modo que podemos cortar la cadena de

transmisión de la enfermedad a través de un correcto tratamiento al utilizar una técnica sencilla, de bajo costo y rápida. En las formas extrapulmonares (orina, LCR, líquido pleural, sangre menstrual, líquido articular y biopsias) y diseminadas (sangre) de la tuberculosis la baciloscopía tiene un valor relativo ya que, generalmente, se trata de muestras clínicas paucibacilares (pobre en bacilos) y es obligatorio practicar cultivo.

La baciloscopía es también útil para el control del tratamiento. Debe efectuarse una por mes durante tres meses luego de iniciado el tratamiento, si el paciente continúa sintomático. De ser así al cuarto mes, debe realizarse cultivo para detectar resistencia al tratamiento.

Actualmente se utilizan otras coloraciones especiales con sustancias fluorescentes: auramina y rodamina que permiten una mayor agilidad diagnóstica en aquellos centros donde el caudal de muestras clínicas para el diagnóstico de TB, es mayor (se observan con objetivo 40X en el microscopio de fluorescencia).

· **Cultivo:** se utiliza un medio especial y enriquecido que es el de Lowenstein-Jensen. Mycobacterium bovis no crece en este medio, por lo que si se lo sospecha como agente etiológico de TB, la muestra debe sembrarse en medio de Stone-Brink. Esto es así porque Mycobacterium bovis necesita piruvato para su desarrollo, sal que no posee el medio de Lowenstein-Jensen. Por el contrario M. tuberculosis necesita asparagina para su desarrollo. Toda muestra para investigar TB que provenga de una zona colonizada debe ser sometida a un proceso de decontaminación y homogeneización cuyos objetivos son: fluidificar la muestra para liberar al bacilo del mucus, células y tejidos en los que está incluido y eliminar la flora asociada. La técnica más utilizada es la de Petroff que usa como decontaminante y fluidificante el hidróxido de sodio al 4%. Los cultivos requieren un largo tiempo de incubación debido al lento desarrollo de Mycobacterium tuberculosis (aproximadamente entre 14 y 21 días) debiendo esperar 60 días para informarlos como negativos. Actualmente existen medios líquidos que aceleran el desarrollo de las micobacterias y aumentan la probabilidad de recuperación, entre ellos se cuenta con los medios de Middlebrook. Estos medios son los que se utilizan en los modernos sistemas sean radiométricos o no radiométricos (BACTEC, BACT/ALERT, BIOARGOS).

· **Detección de M. tuberculosis por técnicas moleculares.**

Es de especial relevancia la aportación que ha supuesto en el último lustro la prueba denominada GeneXpert. Es una técnica sencilla y reproducible que consiste en una reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real; en un tiempo aproximado de 2 horas puede resultar positiva hasta en el 70% de las TB con baciloscopia negativa y cultivo positivo. Lo hace al detectar la presencia de ADN de M. tuberculosis en la muestra, pero a la vez también identifica los cambios en el ADN que pueden producir la resistencia a la rifampicina.

Por lo tanto, en menos de 2 horas aporta un diagnóstico de certeza de TB y de resistencia a la rifampicina, un fármaco esencial en el tratamiento de la TB. La sensibilidad global de la prueba es cercana al 90%, siendo del 98% en pacientes con baciloscopia positiva, y de alrededor del 70% en aquellos con baciloscopia negativa. Al ser mucho más sensible que la baciloscopia, se elige en aquellos pacientes con TB más paubacilares, como los infectados por VIH. La especificidad global es del 99%; esta cifra en comparación con el patrón oro del cultivo. Por su parte, la sensibilidad global para la detección de resistencia a la rifampicina es del 95%, con una especificad del 98%. Estos datos hacen que si un paciente tiene un GenXpert con resistencia a la rifampicina, se le deba tratar como TB-MFR, pues la resistencia a este fármaco va asociada a resistencia a la isoniazida en más de un 95% de los casos.

La OMS ha recomendado recientemente que GeneXpert se utilice como prueba diagnóstica inicial (antes que la baciloscopia) en pacientes VIH con sospecha de TB, o cuando se sospecha resistencia a la rifampicina o TB-MFR. La prueba también se ha mostrado eficaz en el diagnóstico de la TB en ninos y en formas extrapulmonares. Probablemente en los próximos 2-3 anos, GeneXpert acabará reemplazando a la centenaria baciloscopia como prueba diagnóstica inicial en todos los sujetos sospechosos de padecer TB. Y esta podría ser una realidad, máxime cuando el aparato solo requiere de un soporte eléctrico y, por lo tanto, se puede instalar incluso fuera del laboratorio.

· **Identificación:** se realiza con la prueba de la niacina que permite separar a Mycobacterium tuberculosis (niacina positiva) de otras micobacterias (niacina negativa). M. tuberculosis produce cantidades detecta-

bles de niacina. Las otras micobacterias también la producen pero en cantidades muy pequeñas por consiguiente, no detectables.

·**Pruebas de sensibilidad:** La resistencia de M. tuberculosis a los antimicrobianos es una de las causas del fracaso del tratamiento. El método más difundido para establecer la sensibilidad de las micobacterias es el método de las proporciones de Canetti, Rist y Grosset. Se debe realizar esta prueba de sensibilidad en las siguientes situaciones:

a- Cultivo con un determinado número de colonias que puedan sugerir la presencia de mutantes resistentes.
b- Aislamiento en regiones con altas tasas de resistencia.
c- Tratamiento previo con drogas antituberculosas.
d- Antecedentes de exposición o contagio con cepas de pacientes infectados con micobacterias resistentes.
e- Persistencia de cultivos positivos después de tres meses de tratamiento.

Fundamento: es una técnica de dilución en medio sólido (Lowenstein- Jensen) que se basa en comparar el número de bacterias (unidades formadoras de colonias: UFC) sobrevivientes al antimicrobiano con relación a un cultivo control. Se prueban las drogas antituberculosas de primera línea: isoniazida (H), estreptomicina (S) o etambutol (E), rifampicina (R), pirazinamida (Z) o drogas alternativas (de segunda línea) si la cepa fuera resistente.

En la actualidad existen pruebas moleculares que pueden aportar un resultado en 24-48 horas, al detectar, por técnicas de amplificación genética, las mutaciones genéticas del bacilo que producen la resistencia a los fármacos anti-TB. Entre estas técnicas destaca GeneXpert, que puede detectar resistencia a la rifampicina en 2 horas, y el GenoType o ensayo de prueba en línea (Line Probe Assay [LPA]), que puede detectar resistencia a isoniazida y rifampicina en 48 horas. Ambas técnicas pueden realizarse sobre muestra directa, sin que sea necesario esperar al crecimiento en el cultivo. También parecen muy prometedores los resultados de GenoType/LPA para detectar resistencia a las fluoquinolonas y a los antibióticos inyectables de segunda línea (kanamicina, amikacina, capreomicina). Este GenoType/LPA también tiene la capacidad de diferenciar entre M. tuberculosis y más de 30 micobacterias diferentes. El inconveniente, al ser una reacción en cadena de la polimerasa convencional, es que precisa de un laboratorio de biología molecular con 3 espacios diferenciados; además, necesita una mayor carga bacilar para que se pueda realizar, por lo que lo ideal es aplicarlo en muestras con baciloscopia positiva.
El tratamiento de la tuberculosis se realiza con múltiples drogas al mismo tiempo:

1. Para evitar la rápida aparición de resistencia por el fenómeno de mutación-selección. Este fenómeno da origen a poblaciones bacterianas resistentes a los antituberculosos. Esto es especialmente importante en las formas cavitarias en las que, debido al elevado número de bacilos en reproducción activa, es posible la existencia de tales mutantes.
2. Para cubrir las diferentes poblaciones bacilares en la lesión tuberculosa: caverna, macrófago y caseum. Estas poblaciones tienen diferente metabolismo y el pH del medio en que se encuentran es variable; situación que condiciona el ingreso o no del antimicrobiano.

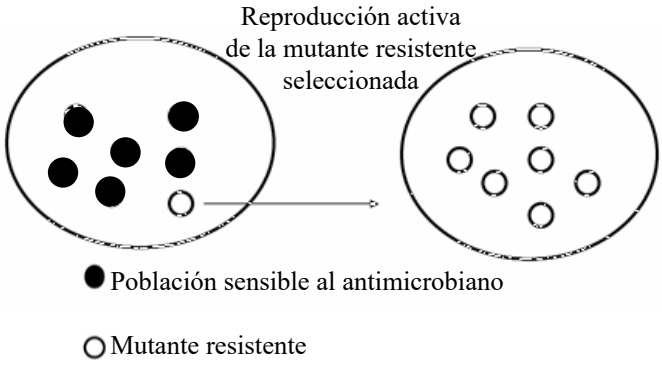
Resistencia de las micobacterias a los antibióticos
La resistencia de las bacterias a los antibióticos ocurre, en general, porque existe alguna barrera o mecanismo de exclusión que afecta la penetración de estas drogas, algún proceso que las degrada, las detoxifica o que altera el "blanco" sobre el que ellas actú-an. La resistencia de las micobacterias no escapa a esta regla.
Estos fenómenos biológicos pueden presentarse en forma difundida en el género, en determinadas especies o simplemente en algunos bacilos.
Se han identificado algunas características constitutivas que determinan la resistencia intrínseca, de las micobacterias a los antibióticos de amplio espectro y de las micobacterias ambientales (llamadas "atípicas") a las drogas antituberculosas. La principal es la constitución de la pared, de alto contenido lipídico que dificulta la penetración de muchos antibióticos. Por otra parte, algunos receptores y enzimas impiden la acción de betalactámicos y aminoglucósidos. El complejo Mycobacterium avium (MAC) posee proteínas ligadoras de penicilina de baja afinidad y betalactamasas; Mycobacterium tuberculosis y algunas micobacterias de rápido desarrollo también poseen

beta-lactamasas constitutivas. Existen otras enzimas, además, capaces de acetilar aminoglucósidos lo que altera el mecanismo de transporte de estos antibióticos hacia el ribosoma, sin que ello se traduzca siempre en resistencia.
Frente a drogas más específicas, con actividad antimicobacteriana, la resistencia es, por el contrario, un fenómeno particular.
Existen además sucesos azarosos, generados por alguna adaptación en el genoma que altera el sitio de acción de las drogas: la mutación, la que aparece únicamente en algún bacilo, pero puede luego llegar a difundirse en una población bacteriana si es seleccionada positivamente. Se conoce con bastante detalle el blanco de las drogas antimicobacterianas, particularmente el de las antituberculosas con excepción del de la pirazinamida (Z) que ha comenzado a ser investigado muy recientemente. A partir de este conocimiento es posible estudiar las mutaciones que generan resistencia.

Drogas antituberculosas y mecanismos de acción
Son cuatro las drogas de primera línea que se utilizan para el tratamiento de la tuber-culosis. Ninguna de ellas puede administrarse en forma aislada, por motivos que se detallarán luego. Las cuatro drogas deben combinarse en un tratamiento específico y prolongado que dura en pacientes inmunocompetentes hasta 6 meses. Esas drogas son: isoniacida (H), etambutol (E), rifampicina (R) y pirazinamida (Z). La estreptomicina (S) puede reemplazar al etambutol, aunque ésta se administra por vía parenteral.
La isoniacida (H) inhibe, en las primeras horas de contacto, la síntesis de los ácidos micólicos de la pared bacteriana, más tardíamente, la actividad metabólica de las enzimas catalasa-peroxidasa y la disponibilidad del NAD, y, por último, altera la síntesis del ADN. El etambutol (E) inhibe la incorporación de glucosa en los azúcares que unen a los ácidos micólicos de la pared micobacteriana; cuando se prolonga el tiempo de acción, es capaz también de inhibir la síntesis de espermidina alterando el metabolismo celular. Otras drogas de segunda línea también actúan sobre la formación de la pared (etionamida y cicloserina).
La rifampicina (R), por su parte, se une a la polimerasa del ARN y este cambio conformacional impide la transcripción del ARN mensajero. La estreptomicina (S), al igual que otros aminoglucósidos antituberculosos de segunda línea (capreomicina, viomicina, kanamicina, amicacina) se une al ribosoma de la bacteria bloqueando la síntesis proteica.
El ácido para-amino-salicílico (PAS), por ser análogo del salicilato, impide la síntesis de dos moléculas esenciales para el metabolismo de las micobacterias: el ácido fólico y la micobactina.

Selección y transmisión de la resistencia
El mecanismo mediante el cual las micobacterias se hacen resistentes a las drogas antituberculosas se denomina mutación-selección.
Las mutaciones se producen durante la multiplicación con muy baja frecuencia. Aparece un bacilo resistente cada cien mil a diez mil millones presentes, según la droga
que se considere. Entonces, el número de microorganismos resistentes es mayor cuan-to mayor es la cantidad de bacilos que hay en la lesión y la probabilidad de transmisión de estas bacterias resistentes también aumenta cuando la lesión tuberculosa se cavita. Resumiendo, existe mayor probabilidad de aparición y contagio de bacilos resistentes cuando la enfermedad está muy avanzada.
La tasa de mutación es constante para cada droga. Como consecuencia lo que pueden provocar estas drogas es la selección de una población de mutantes resistentes. Este fenómeno se denomina presión selectiva. La droga en uso sólo mata a los bacilos de la tuberculosis que son sensibles a ella, pero no a los que son resistentes, los cuales persisten en la lesión, multiplicándose. De allí que el tratamiento de la tuberculosis deba hacerse con más de una droga. La monoterapia llevaría a una población bacilar resistente. El uso de cuatro drogas hace que los bacilos que no son eliminados por una, lo sean por otra y viceversa. La probabilidad que un mismo bacilo mute haciéndose resistente a más de una droga es muy remota.

CAVERNAS TUBERCULOSAS
Fenómeno de mutación-selección:



Las mutaciones que determinan que las drogas sean ineficaces es cromosómica y no plasmídica. Mycobacterium tuberculosis es un parásito intracelular que depende de un huésped para sobrevivir, por lo que tiene muy poca chance de interaccionar con otras bacterias para intercambiar material genético. No existe, entonces, transmisión de material genético de otras bacterias a las micobacterias.
El bacilo de la tuberculosis resistente a los tuberculostáticos es menos virulento que las cepas sensibles y las micobacterias medioambientales son naturalmente poco virulentas y no transmisibles de hombre a hombre. Por ende, dependerá del sistema inmune de los individuos expuestos que la infección por micobacterias resistentes progrese a enfermedad.
De lo expresado se desprende que la naturaleza poco favorece la aparición y diseminación de micobacterias resistentes. El problema es, en realidad, consecuencia del mal uso de antibióticos.

Multirresistencia

La resistencia de Mycobacterium tuberculosis a antibióticos y quimioterápicos conocida como multirresistencia, ha surgido en los últimos años como un tema de preocupación en el campo de la salud.
Se entiende por multirresistencia del bacilo, aquella que incluye, por lo menos, a las dos drogas antituberculosas fundamentales: isoniacida (H) y rifampicina (R). En este caso la probabilidad de cura se limita a la inmunidad del huésped, ya que el resto de las drogas poseen una capacidad bactericida y esterilizante significativamente menor que la dupla H-R.

· Se denomina resistencia inicial o primaria a la que posee Mycobacterium tuberculosis aislada del paciente antes de que éste comience el tratamiento.
· Se denomina resistencia adquirida o secundaria a aquella que se desarrolla en el transcurso del tratamiento.

La multirresistencia es por lo tanto un producto de la actividad humana, de los tratamientos mal administrados, ya sea por desconocimiento médico o por mala vigilancia del tratamiento. La monoterapia es por ende un refinado instrumento para perpetuar la tuberculosis.
En la actualidad existe la tuberculosis extremadamente resistente. La tuberculosis extremadamente resistente (XDR TB, por sus siglas en inglés) es un tipo poco común de tuberculosis multirresistente (MDR TB), resistente a la isoniacida y a la rifampicina, así como a todas las fluoroquinolonas y a por lo menos uno de tres medicamentos inyectables de segunda línea (p. ej., amicacina, kanamicina o capreomicina).
La tuberculosis resistente a los medicamentos (MDR o XDR) es más común en las personas que:

• No toman sus medicamentos para la tuberculosis en forma regular;
• No toman todos sus medicamentos para la tuberculosis según las indicaciones de su médico o de un miembro del personal de enfermería;
• Presentan nuevamente la enfermedad de tuberculosis, después de haber tomado medicamentos en el pasado para esta enfermedad;
• Provienen de regiones del mundo donde la tuberculosis resistente a los medicamentos es común;
• Han pasado tiempo con alguien que padece de tuberculosis resistente a los medicamentos.

Se denomina así a un conjunto de entidades clínicas que remedan en su comportamiento clínico-radiológico a la TB, pero cuyos agentes son las llamadas micobacterias medio-ambientales potencialmente patógenas (PPEM), descriptas por primera vez en 1932 por Runyon, quien las clasificó en 1959 y posteriormente redescubiertas y reclasificados por Wolinsky en 1992. Son similares al COMPLEJO TUBERCULOSIS porque:

· Pertenecen a la flia. Micobacteriaceae
· Poseen ácidos micólicos en su pared celular
· Son aerobias estrictas
· Copian clínica y radiológicamente a la TB
· Algunas son de crecimiento lento
· Crecen bien en medios de Lowenstein-Jensen y medios de Middlebrook Se diferencian del COMPLEJO TUBERCULOSIS porque:

· Algunas son de crecimiento rápido
· No reconocen contagio interhumano
· Ingresan con mayor frecuencia por vía digestiva
· Se hallan ampliamente distribuidas en la naturaleza (suelo, tierra, agua)
· Algunas forman parte de la flora normal del ser humano (Mycobacterium smegmatis)
· Afectan a individuos inmunosuprimidos
· Son niacina negativa

· Sus colonias son disgónicas (húmedas, convexas)
· Producen pigmentos
· Pueden producir brotes intrahospitalarios
· Su incidencia en la Argentina es del 0,35% (corresponde a 41 casos por 100.000 habitantes por año)
· Son resistentes a la mayoría de los tuberculostáticos utilizados para el tratamiento de la TB.

Clasificación (Wolinsky, 1992)

I. Micobacterias medio-ambientales de crecimiento rápido: demoran 7 días en desarrollar en medios de cultivo. Pertenece a este grupo de micobacterias el Complejo Mycobacterium fortuitum, constituido por Mycobacterium fortuitum y Mycobacterium chelonae.
II. Micobacterias medio-ambientales de crecimiento lento: su desarrollo se visualiza después de 14-21 días de incubación.

De acuerdo a la producción o no de pigmento se clasifican (Runyon, 1959):

· Fotocromógenas: sólo producen pigmento en presencia de luz. Pertenecen a este grupo M. kansasii y M. marinum.
· Escotocromógenas: producen siempre pigmento, haya o no luz. Pertenecen a este grupo: M. scrofulaceum, M. szulgai, M. gordonae, M. flavescens y M. simiae.
· No cromógenas: nunca producen pigmento. Pertenece a este grupo el COMPLEJO MYCOBACTERIUM AVIUM, constituido por Mycobacterium avium, Mycobacterium intracellulare, Mycobacterium lepraemurium, Mycobacterium silvaticum, Mycobacterium paratuberculosis. Los dos primeros responsables de casi el 90% de las infecciones a micobacterias medio-ambientales en pacientes con VIH/SIDA, frecuentemente aislado de muestras sanguíneas y al último se lo atribuye como posible agente causal de la enfermedad de Crohn.

Diagnóstico de laboratorio

La presencia de micobacterias medioambientales en cultivos de muestras clínicas siempre ha sido controversial al momento de asignarles el rol de agente etiológico pues se trata de bacterias ampliamente distribuidas en la naturaleza.
La cirugía de implantes, sean éstos ortopédicos, oculares o estéticos; ha abierto un nuevo horizonte respecto a la contaminación de los mismos con estos agentes. En las últimas décadas se han podido aislar estos microorganismos de prótesis ortopédicas, lentes intraoculares y también implantes mamarios. Los tatuajes que se relacionan con la estética han sido puestos en discusión por haberse aislado micobacterias en aquellos que no cumplían con las estrictas normas de bioseguridad.
1. Recolección de la muestra: la gran variedad de localizaciones clínicas hace que se las encuentre en un sinnúmero de muestras, dependerá de cada sitio en particular. La muestra de sangre para hemocultivos requiere de un proceso especial conocido como lisis-centrifugación. Se somete la sangre extraída del paciente a un proceso lítico mediante una sustancia conocida como saponina (sustancia detergente que cumple una función de hemólisis). Luego se centrifuga la muestra y sólo se siembra el sedimento (pellet) en los medios de cultivos especiales (Lowenstein-Jensen o Middlebrook)
2. Envío y Procesamiento de la Muestra: se siguen los mismos pasos que para el diagnóstico de TB. Las diferencias importantes radican en que las micobacterias medio-ambientales son más cocoides en su morfología respecto al Complejo Tuberculosis, que la morfología colonial es totalmente diferente y que la prueba de la niacina en éstas es siempre negativa (salvo algunas excepciones en donde es variable).
Si en un cultivo se aislan micobacterias medio-ambientales, se deberán evaluar los siguientes criterios para asegurar que se trata del agente etiológico que produce la enfermedad en el paciente y no de una contaminación de la muestra clínica (recordar que algunas micobacterias medio-ambientales forman parte de la flora normal), a saber:

1. Evidencia clínica de patología compatible con micobacteriosis
2. Aislamiento en cultivo con 5 ó más colonias, en forma reiterada (dos ó más aislamientos si la muestra proviene de áreas colonizadas) o aislamiento único si la muestra proviene de áreas estériles.
3. No aislar micobacterias medio-ambientales con micobacterias pertenecientes al Complejo Tuberculosis en una misma muestra.

Si los aislamientos fueran de muestras nobles o de sangre y el paciente fuera: VIH seropositivo, transplantado o inmunosuprimido por otras causas (colagenopatías, tratamiento con citostáticos), se con-

siderará a los mismos como agentes causales de la patología infecciosa, debiéndose indicar tratamiento.

PREVENCIÓN

Prevención inespecífica

Surge de reconocer los factores de riesgo para Infecciones Respiratorias y tratar de eliminarlos o disminuir su impacto.

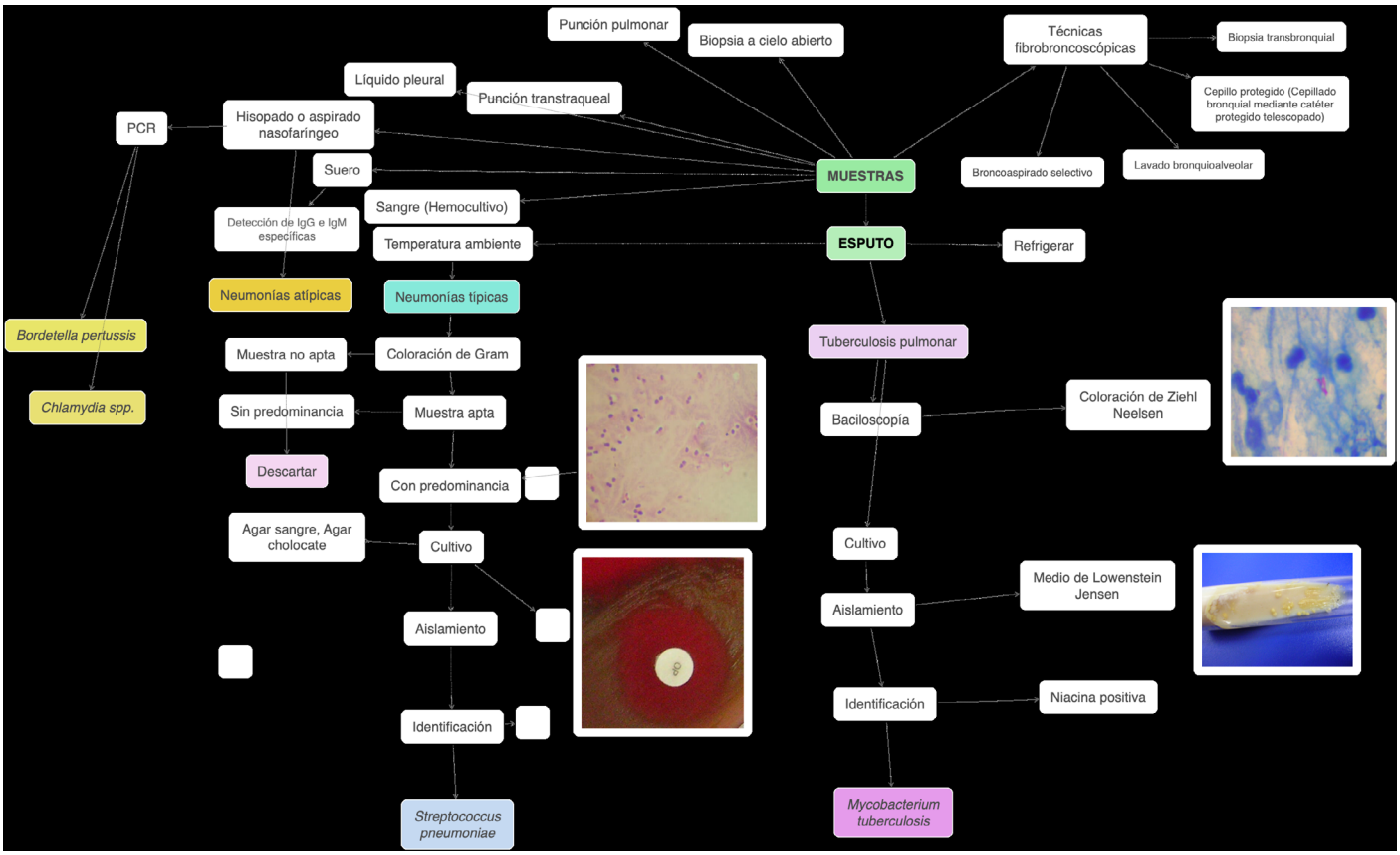
También se deberá identificar a los pacientes con factores de riesgo para infecciones respiratorias graves y asegurarse de que reciban atención preferencial en caso de padecerlas. Se deberá recordar que los pediatras, independientemente del nivel de atención en el que actúen, son los principales instrumentos en la tarea de concientizar a la población sobre la magnitud del problema y del impacto que pueden tener las medidas de prevención.

Prevención específica

Surge de la posibilidad de inmunizar contra agentes productores de Infecciones Respiratorias. Las vacunas anti-pertussis, antisarampionosa, anti-Haemophilus influenza b, antineumocócica 13 V y antigripal aplicadas de acuerdo con las recomendaciones del Calendario Nacional de Vacunación son eficaces para disminuir la mortalidad por infecciones respiratorias. Se debe corroborar la administración de las vacunas antigripal y doble adulto (DTPa) durante el embarazo o puerperio, cuando estuviese indicada. El empleo de anticuerpos monoclonales contra el VRS (palivizumab) en niños prematuros y con displasia broncopulmonar se ha mostrado eficaz para disminuir el riesgo de internación por esa infección.

La vacuna BCG cotra la tuberculosis sigue siendo eficaz para prevenir la enfermedad tuberculosa meníngea.

Algoritmo diagnóstico para infecciones bacterianas de las vías aéreas inferiores



Bibliografía

• Caminero Luna, JA. Actualización en el diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis pulmonar. Rev Clin Esp. 2015. http://dx.doi.org/10.1016/j.rce.2015.09.005

• de Kruif, P. 1938. Los Cazadores de Microbios. Ed. Claridad. 1ra. Edición. Buenos Aires, República Argentina.

• Forbes, B., Sahm, D. et al. 2009. Bailey & Scott Diagnóstico Microbiológico. Ed. Panamericana. 12va. Edición. Buenos Aires, República Argentina.

• Giayetto V, Blanco S, Mangeaud A, Barbás MG, Cudolá A y SV Gallego. Caracterización de la infección por Bordetella pertussis, Bordetella spp. y coqueluche en la provincia de Córdoba, Argentina. Rev. chil. infectol. vol.34 no.2 Santiago abr. 2017

• Littvik A y col. 2015. Tras las Huellas de un Mundo Invisible. Sima Editora, 5ª Ed. Córdoba, República Argentina.

• Marimón JM y JM Navarro-Marí . Métodos de diagnóstico rápidos para las infecciones respiratorias. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 2017; 35(2): 108-115.

• Ministerio de Salud de la Nación. Guía de Vigilancia Epidemiológica y Recomendaciones para la Prevención y Diagnóstico de Enfermedades Respiratorias Agudas en Argentina. 2018.

• Moreno, C et al. Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello. 2009: v. 69 n.2 Santiago, Chile.

• Murray P, Kobayashi G, Pfaller M, Rosenthal K. 2006. Microbiología Médica. Ed. Mosby (Elsevier Science). 5ª Ed. Amsterdan.

• Romero Cabello R. 2007. Microbiología y Parasitología Humana. Editorial Panamericana, 3º Ed. México.

• Soc. Esp. de Enf. Infec. y Microbiol. 2006. Clín. Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Madrid, España. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Ed. Panamericana. © 2006 EAN: 9788479039219

• Tortora, G. et al. Introducción a la Microbiología. 2017. Editorial Panamericana, 12ª Ed. CABA. Argentina.

Capítulo 15
Infecciones oculares

"*Como no sabías disimular me di cuenta en seguida de que para verte como yo quería era necesario empezar por cerrar los ojos.*" (Rayuela, Julio Cortázar. 1963).

Introducción

Nuestra vista es preciosa. Se trata, quizás, de uno de los seis sentidos con mayor precisión que existe y de uno de los elementos que permite la interrelación humana con el mundo que la rodea.

Siempre se dijo que el ojo es el órgano de la visión, pero en realidad los procesos de interpretación de lo que se ve se realizan en el Sistema Nervioso Central. El ojo es el órgano que permite que esto ocurra. Es la máquina fotográfica exacta que abre las puertas a ese exterior maravilloso que nos asombra y nos es ajeno. Solo una pequeña porción del ojo está expuesta al exterior. Está maravillosamente protegido, tanto por su posición en nuestro cráneo, incluido dentro de las órbitas óseas; como por varios mecanismos de defensa: las pestañas, los párpados, la producción de lágrimas con la secreción de lisozima y la presencia de Inmunoglobulina A secretora. Así como también cada una de sus delicadas estructuras internas están envueltas por una estructura de colágeno dura.

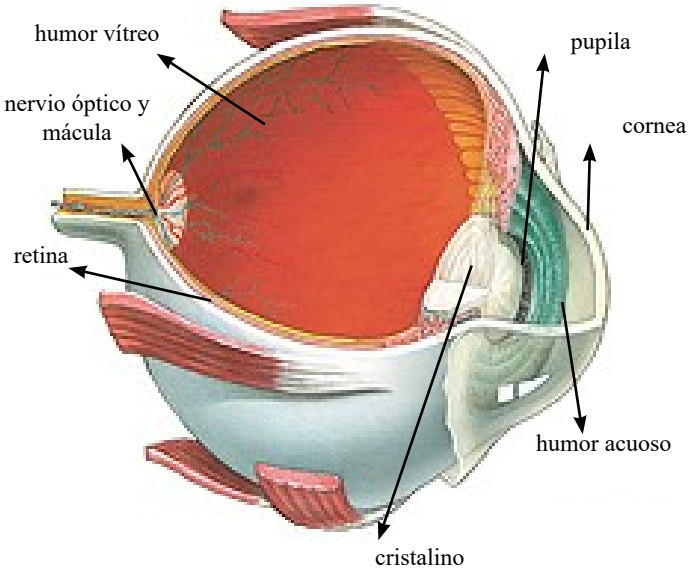
Juntos, estos mecanismos mantienen la parte exterior del ojo libre de polvo dañino y de material extraño ejerciendo mecanismos de limpieza a manera del "limpiaparabrisas" de un auto último modelo.

La microbiota normal del ojo es escasa. Staphylococcus epidermidis, Lactobacillus spp. y Propionibacterium acnes son los habitantes habituales del sitio aunque algunos otros pueden encontrarse como colonizantes: Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis, especies de enterobacterias y estreptococos.

Esta microbiota es semejante a la microbiota normal de la piel y ayuda en los procesos de protección del ojo impidiendo la colonización de otros microorganismos.

Pero, sin embargo, debido a su exposició<n, el ojo humano puede sufrir injurias e infecciones que requieren un diagnóstico y terapéutica adecuados.

Estructuras del ojo humano



Infecciones oculares

Las infecciones oculares que se observan con mayor frecuencia en la práctica diaria corresponden a aquellas que se presentan en las estructuras externas del ojo. Para una mejor comprensión de las mismas las dividimos en:

- Infecciones de los anexos (párpado y sistema lagrimal) y tejidos blandos periorbitarios: orzuelo y chalazión, dacrioadenitis y dacriocistitis, blefaritis y celulitis.
- Conjuntivitis.
- Queratitis.
- Infecciones profundas: endoftalmitis, uveítis, retinitis.

Infecciones de los anexos

Orzuelo y Chalazión

Es una inflamación aguda de las glándulas palpebrales. Cuando afecta a las glándulas sebáceas de Zeiss o sudoríparas de Moll se produce un orzuelo externo y si afecta a las glándulas de Meibomio, que están en el interior del tarso (conjuntiva tarsal), se produce un orzuelo interno. En este último caso, cuando la inflamación es crónica se denomina chalazión. El microorganismo más frecuentemente implicado es Staphylococcus aureus.

El orzuelo clínicamente se caracteriza por intenso edema de los párpados y de la conjuntiva adyacente con una tumoración muy dolorosa de la piel palpebral en la zona de las pestañas o en el borde del párpado

que en etapas avanzadas llega a supurar. Puede existir afectación de los ganglios linfáticos regionales y trombosis de la vena angular (flemón orbitario).
En el chalazión se produce un nódulo duro, indoloro y sin signos irritativos. El nódulo se encuentra en el espesor del tarso, está bien delimitado, la piel se desliza fácilmente sobre él y está compuesto de tejido de granulación.
El tratamiento del orzuelo consiste en la aplicación de calor local y tratamiento antimicrobiano y antiinflamatorio tópico (pomada). Si son grandes y muy extensos debe considerarse el tratamiento antimicrobiano por vía oral y drenaje quirúrgico.
El chalazión debe ser siempre tratado quirúrgicamente.

Dacrioadenitis y dacriocistitis
La dacrioadenitis es la inflamación de la porción externa (temporal) del párpado superior. Es una infección poco frecuente y suele estar relacionada con enfermedades sistémicas como síndrome de Sjögren, sarcoidosis o tumores.
Produce una ptosis mecánica y una deformidad del párpado superior en "S tumbada". El edema puede extenderse a la fosa temporal y a los ganglios preauriculares. La etiología en los niños es viral (Virus de la Parotiditis, del Sarampión o Virus Epstein-Barr) y en el adulto debe descartarse Neisseria gonorrhoeae aunque también están implicados Staphylococcus aureus y Streptococcus pneumoniae.
La dacriocistitis es la infección del saco lagrimal. Se manifiesta por una tumoración en la parte interna (nasal) del párpado inferior muy dolorosa, roja y que, al palparla, se produce la salida de pus a través del orificio lagrimal.
Generalmente se produce por una obstrucción del conducto naso-lagrimal. Afecta a niños y ancianos. En los casos agudos los microorganismos más frecuentes son Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes y Streptococcus pneumoniae.
En los casos crónicos se ha implicado además de éstos, Actinomyces spp., Aspergillus spp. y Candida spp.
El tratamiento debe hacerse con antibióticoterapia sistémica, generalmente por vía oral y en casos graves y extensos por vía intravenosa. Cuando se ha resuelto el cuadro agudo hay que plantear tratamiento quirúrgico, ya que es muy frecuente la recidiva por la existencia de una malformación del canal o la existencia de una obstrucción.

Blefaritis
Es la inflamación de todo el borde libre de los párpados. Suele ser bilateral pero si fuese unilateral, habría que descartar un proceso maligno; sobre todo en pacientes ancianos.
Su curso es crónico y de difícil solución. Está asociada, generalmente, a dermatitis atópica en los niños o rosácea en los adultos. Se caracteriza por presentar ardor, prurito, sensación de cuerpo extraño y formación de costras en los párpados. Puede existir sobreinfección con microorganismos de la flora cutánea como Staphylococcus aureus y Staphylococcus epidermidis.
Los virus también pueden causar blefaritis. Uno de ellos el Virus Herpes Simplex que causa la típica lesión vesicular en los bordes palpebrales que conlleva a la sobreinfección bacteriana.
Phthirius pubis, el piojo pubiano, tiene predilección por el pelo de las pestañas, produciendo irritación, prurito y edema del borde palpebral.
El tratamiento antimicrobiano en este caso es lo menos importante, pero si se instaura debe hacerse de forma tópica.

Celulitis orbitaria y periorbitaria
Es la inflamación del tejido blando alrededor de la órbita. Puede ser orbitaria o preseptal. Afectando a los párpados y a los tejidos que están por detrás del septo orbitario se denominada orbitaria y confinada al párpado por delante del septo orbitario se denomina pre-septal o periorbitaria.

Celulitis orbitaria: suele ser secundaria a una sinusitis y en ocasiones puede producirse por extensión de una celulitis pre-septal. En este caso se afecta el globo ocular y la órbita existiendo quemosis conjuntival, limitación de los movimientos oculares, proptosis y neuritis óptica con disminución de la visión.
Suele ir acompañada de fiebre y leucocitosis. Los agentes etiológicos más frecuentes son Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae y Staphylococcus aureus. El manejo del paciente debe hacerse siempre hospitalizado, realizando de forma urgente una tomografía axial computada (TAC) para conocer la extensión de la lesión y hemocultivos.
La duración del tratamiento debe ser al menos de 2 semanas. Hay que buscar siempre datos clínicos de

meningitis y en caso de existir, hacer una punción lumbar.
Si existe absceso subperióstico debe realizarse drenaje quirúrgico urgentemente, suele estar relacionado con una sinusitis etmoidal.

Celulitis preseptal o periorbitaria: puede ser secundaria a una sinusitis paranasal, lesión cutánea o por una bacteriemia en niños por Haemophilus influenzae o Streptococcus pneumoniae. Otras bacterias implicadas son Staphylococcus aureus y Streptococcus pyogenes.
Se produce edema con hiperemia del párpado y tejidos circundantes, pero sin afectar al globo ocular ni al hueso orbitario, por lo que la visión y la movilidad son normales.
Debe realizarse un drenaje quirúrgico y así recoger una muestra para realizar un diagnóstico microbiológico. El tratamiento debe durar entre 7 y 10 días y se puede hacer ambulatoriamente por vía oral, salvo en los casos graves que requieran hospitalización.

Canaliculitis
Es una infección poco frecuente y se suele presentar en personas de edad avanzada. La etiología más frecuente son los actinomicetos, sobre todo Actinomyces israelii, aunque también se pueden aislar Nocardia spp. y Mycobacterium spp., así como bacterias anaerobias como Fusobacterium spp.

Conjuntivitis
La conjuntivitis es la inflamación de la conjuntiva, que es la membrana mucosa que cubre la parte anterior del ojo y el interior de los párpados. Es una de las causas más frecuentes del denominado "ojo rojo". Habitualmente, afecta a los dos ojos al mismo tiempo, aunque puede empezar en un ojo y extenderse al otro en uno o dos días.
Las conjuntivitis infecciosas, causadas por un agente infeccioso (bacterias comunes, clamidias o virus), se manifiestan generalmente de forma aguda. Pueden ser asimétricas, afectando más a un ojo que a otro. Hay numerosas causas de conjuntivitis, por lo que el tratamiento depende del diagnóstico establecido.
Los diferentes tipos de conjuntivitis infecciosa son la bacteriana, la viral y la causada por clamidias.

Conjuntivitis bacteriana
También denominada conjuntivitis purulenta. Es menos común que la conjuntivitis viral. En la mayoría de los casos es de comienzo agudo caracterizándose por presentar un exudado purulento unilateral o bilateral, con edema.
Los microorganismos más frecuentemente aislados pertenecen, en general, a la microbiota normal del tracto respiratorio superior. S. aureus ocupa el primer lugar seguido de S. pneumoniae y Haemophilus influenzae.
Los más destructivos son P. aeruginosa y en los casos de comienzo "hiperagudo" se han aislado N. gonorrhoeae y N. meningitidis, aquí los síntomas se desarrollan en el plazo de 12 horas y se precisa un tratamiento inmediato y agresivo, ya que en un 10% de las ocasiones puede existir perforación corneal.
La conjuntivitis bacteriana aguda también puede ser causada por Chlamydia trachomatis en pacientes adultos sexualmente activos o en recién nacidos que se contagian al pasar por el canal del parto.
En estos casos hay que realizar diagnóstico de infección de transmisión sexual al paciente y al/los contacto/s sexuales.

Conjuntivitis viral
Se trata de un proceso ocular unilateral que está acompañado de secreción blanquecina escasa que puede relacionarse con una infección respiratoria previa causada principalmente por Adenovirus.
También llamada querato-conjuntivitis epidémica. Es la más frecuente de las de etiología viral. Es fácilmente transmisible.
Los Adenovirus más implicados son el tipo 8 y 19. Hay que diferenciarla de la conjuntivitis hemorrágica causada por Enterovirus o Virus Coxsackie.
Suele estar precedida por síntomas de infección del tracto respiratorio superior, como faringitis y fiebre, y no es infrecuente que el paciente refiera haber estado en contacto con alguna persona con "ojo rojo", especialmente niños en edad escolar, ya que es muy contagiosa.
Es de comienzo agudo y unilateral, aunque rápidamente se hace bilateral. Típicamente se tiene un empeoramiento de los síntomas entre los 4 a 7 días del comienzo y posteriormente mejora.
Su curso es autolimitado y no precisa tratamiento salvo sintomático. Debido a que es muy contagiosa debe evitarse el contacto con otras personas y superficies (evitar baño en piscina, emplear pañuelos de un solo uso y uso personal).

Hay otros virus que también pueden originar conjuntivitis viral; el más grave es el Virus Varicela-Zoster, que causa el denominado herpes oftálmico.

Conjuntivitis aguda por Chlamydia trachomatis
Presenta la misma sintomatología que la conjuntivitis bacteriana, pero con la presencia, además, de una adenopatía preauricular e importante inflamación palpebral.

Oftalmía del recién nacido (Ophthalmia neonatorum)
Cualquier infección en la conjuntiva del recién nacido se denomina oftalmía del recién nacido. Los ojos del bebé se contaminan, por lo general, con el agente infeccioso durante el paso a través del canal del parto. Las causas de oftalmía del recién nacido son:

• Bacterias oportunistas como estafilococos, Streptococcus pneumoniae, estreptococos beta-hemolíticos de los serogrupos A y B y algunos bacilos Gram negativos como Pseudomonas aeruginosa.
• N. gonorrhoeae y Neisseria meningitidis.
• Chlamydia trachomatis.
• Vírus Herpes Simplex Humano tipo 2 (herpes genital).

En el cuadro se puede observar un diagnóstico diferencial de las conjuntivitis de acuerdo a su etiología.

Diagnóstico microbiológico

Los estudios microbiológicos son de poca utilidad especialmente en las conjuntivitis de origen bacteriano ya que el tratamiento empírico es a veces más rápido que los resultados del laboratorio; sin embargo, se hace necesario el estudio microbiológico debido a las complicaciones que pueden acarrear estos procesos oftálmicos.

Toma de la muestra:
Se realiza un hisopado del fondo de saco conjuntival o del ángulo interno del ojo en forma vigorosa y sin anestésicos. Se utiliza un hisopo embebido en solución fisiológica. El material del hisopo deberá corresponder siempre al microorganismo a ser investigado (de algodón o dacron o espátulas de platino). Se deben tomar muestras de ambos ojos aunque solo uno de ellos esté comprometido, ya que se facilitará la interpretación de los resultados cuando el agente etiológico forme parte de la microbiota normal.

Transporte y conservación:

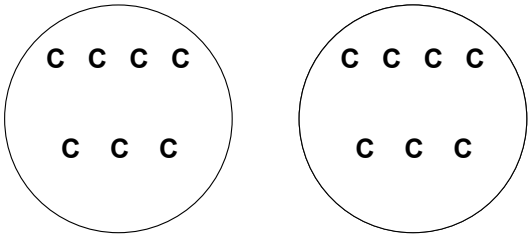
Diagnóstico Diferencial de las Conjuntivitis

Signos y síntomas	Viral	Bacteriana	Chlamydia	Alérgica
Secreción	Mínima Acuosa	Abundante Purulenta	Abundante Acuosa	Mínima Acuosa
Lagrimeo	Profuso	Moderado	Moderado	Moderado
Picazón	Mínima	Mínima	Mínima	Importante
Adenopatía preauricular	Frecuente	Rara	Frecuente	No
Microscopio	Monolitos y Linfocitos	PMN y Bacterias	PMN	Eosinófilos
Odinofagia y fiebre	Ocasional	Raro	No	No

Los hisopos deben ser enviados al laboratorio lo más rápido posible. Para investigación de bacterias comunes pueden ser colocados en medios de transporte. Para la investigación de virus y clamidias es conveniente colocarlos en medios de transportes específicos y a una temperatura de 4ºC hasta su procesamiento.

Cultivo:
Se deben sembrar dos placas de medios enriquecidos: agar sangre y agar chocolate. La siembra se realiza por agotamiento, descargando el hisopo en forma de

letra “C” entre 8 a 10 veces por placa, lo que permite hacer un recuento semicuantitativo y facilita la interpretación de los resultados al momento de comparar ambos ojos.



Se pueden sembrar otros medios de cultivo como: Thayer Martin, agar manitol salado o agar Sabouraud, caldo de tioglicolatoo infusión cerebro-corazón, si se quieren aislar otros agentes etiológicos. El crecimiento será: escaso cuando sólo haya desarrollo hasta la segunda letra “C”; regular si desarrolla entre la tercera y la sexta letra “C” y abundante cuando se exprese más allá de la sexta letra “C”.
Para el diagnóstico de infección viral se requiere del cultivo en líneas celulares esperando observar el efecto citopático del virus sobre las mismas entre el primer y el séptimo días de incubación.
Para el aislamiento de clamidias es indispensable el cultivo celular, aunque muy específico, no presenta un 100% de sensibilidad.

Examen directo:
Se hace luego de realizar el cultivo para evitar la pérdida de gran cantidad de muestra y la contaminación. Se realizan coloraciones de Gram y Giemsa. La presencia de células epiteliales y leucocitos nos orienta al tipo de conjuntivitis. La presencia en un extendido de abundantes leucocitos polimorfonucleares se correlaciona con una conjuntivitis bacteriana aguda. La presencia de eosinófilos se relaciona íntimamente con una conjuntivitis alérgica. Los linfocitos nos acercan a una conjuntivitis de origen viral.
En la coloración de Gram se interpreta como altamente sugestivo al microorganismo que se presente como predominante. La coloración de Giemsa puede mostrar en algunos casos la presencia de inclusiones citoplasmáticas en las células epiteliales y orientar a una infección por clamidias. Se pueden detectar cuerpos elementales extracelulares por medio de ELISA o IF directa.

Métodos rápidos:
Existen algunos métodos rápidos de detección de agentes virales que superan en muchos casos al cultivo celular. Se basan en la detección de antígenos en el hisopado conjuntival o técnicas de biología molecular (RCP).

Interpretación de los resultados:
El desarrollo de bacterias en las estrías “C” sembradas puede correponder a agentes de la microbiota normal, es por ello que se deben intepretar con cautela. S. epidermidis, Corynebacterium spp. y Propionibacterium acnes, bacterias de la microbiota normal, deben tener un crecimiento confluente que supere más allá de seis a ocho letras “C”. La presencia de células inflamatorias en el extendido ayuda en estos casos. Los cultivos negativos pueden deberse a conjuntivitis virales o por clamidias o inclusive a una terapia ATM previa.

Queratitis
Es la inflamación de la córnea que se presenta como edema, infiltración leucocitaria y enrojecimiento alrededor del borde de la córnea. Es muy dolorosa y puede comprometer la visión.
El origen de ésta puede ser infeccioso (bacterias, virus, hongos) o no infeccioso (falta de oxígeno en la córnea por el uso excesivo de lentes de contacto, exposición a luz ultravioleta, trauma), enfermedades sistémicas (diabetes mellitus, enfermedades del colágeno) o tratamiento inmunosupresor o esteroideo.
Es importante tener en cuenta que siempre que se sospeche una queratitis debe enviarse al paciente al oftalmólogo para que realice un diagnóstico etiológico y pueda poner un tratamiento adecuado, ya que si no se hace puede dar lugar a úlcera corneal y pérdida de la visión.

Queratitis bacteriana
Si no se trata puede producir perforación corneal. El mayor factor de riesgo son las lentes de contacto, en especial si son blandas y se duerme con ellas o no se quitan en varios días.
Generalmente se presentan con “ojo rojo”, fotofobia, dolor ocular, disminución de la visión y exudado conjuntival. La progresión de los síntomas y los signos va a depender del microorganismo responsable. Los más frecuentes son S. aureus (que ocupa el primer lugar), P. aeruginosa y enterobacterias como E. coli, K. pneumoniae, Serratia spp.
El tratamiento puede hacerse con antimicrobianos tó-

picos como en el caso de las conjuntivitis y si existe perforación corneal se pondrá tratamiento sistémico por vía oral según los resultados del antibiograma. En caso de existir una queratitis causada por Neisseria spp. se procederá igual que en las conjuntivitis.
Además del tratamiento antimicrobiano debe dejarse la pupila en reposo para lo que se pautará ciclopléjico tópico y se puede administrar también tópicamente un colirio antiinflamatorio.
Puede causar distintas enfermedades: tracoma, conjuntivitis de inclusión del recién nacido, conjuntivitis de piscina de niños y jóvenes, así como conjuntivitis asociada a una infección de transmisión sexual (clamidiasis).

Queratitis intersticial por Chlamydia trachomatis
Chlamydia trachomatis es el agente del tracoma, enfermedad que afecta aproximadamente a 400 millones de personas en los países subdesarrollados y que es la principal causa de ceguera. Se debe a la falta de medidas higiénicas y en la mayoría de los casos hay reinfecciones frecuentemente.
En el tracoma hay una gran hipertrofia papilar, con pérdida de transparencia de la córnea. Es posible la aparición del pannus tracomatoso, que consiste en la aparición de vasos conjuntivales neoformados sobre la córnea, con la consiguiente pérdida de transparencia.
Debe realizarse diagnóstico de infección de transmisión sexual al paciente y al/los contacto/s sexual/es.

Queratitis herpética
El agente etiológico es el Virus Herpes Simplex. Se trata de una queratitis recurrente unilateral que produce una úlcera corneal "dendrítica" con fotofobia y disminución de la visión. Suele asociarse con inyección conjuntival y adenopatía preauricular.
El dolor va a depender de la profundidad de la úlcera, siendo menor cuanto más profunda es la misma. En la exploración oftalmológica es típica la tinción con fluoresceína del área central de la úlcera.
Existe otra entidad producida por el Virus Varicela-Zoster que es una afectación del trigémino con lesiones cutáneas vesículo-costrosas, dolorosas que pueden afectar a cualquier parte del globo ocular. El diagnóstico es clínico, generalmente.

Queratitis por Acanthamoeba spp.
Acanthamoeba spp. es un protozoo ubicuo que se encuentra en el agua y el suelo.
El 70% de las queratitis que produce están relacionadas con el uso de lentes de contacto en personas, en general, con mala higiene o bien que se bañan en lugares públicos con aguas contaminadas.
La clínica que produce es indistinguible de las anteriores y en la mayoría de los casos suelen ser pacientes a los que se les ha prescripto tratamiento para una queratitis bacteriana o herpética y no han mejorado.
El tratamiento es difícil debido a la pobre respuesta. Es frecuente que existan fallos terapéuticos teniendo que llegar al transplante corneal para erradicar la infección.

Queratitis fúngica
Es mucho menos frecuente que la bacteriana y está asociada generalmente a un traumatismo, con inoculación de material extraño del suelo. Los hongos implicados son Candida spp., Aspergillus spp. y Fusarium spp.
La clínica es similar a cualquiera de las queratitis bacterianas descriptas.

Diagnóstico microbiológico
El diagnóstico clínico de queratitis no puede realizarse sin el apoyo del laboratorio de microbiología ya que no se pueden establecer diferencias radicales entre causas infecciosas y no infecciosas de injuria corneal. En este caso es el oftalmólogo quien debe proceder a tomar la muestra para luego realizar los extendidos y los cultivos "in situ". Si no fuera posible se proporcionarán los medios de transporte adecuados: Stuart y Cary-Blair.
La toma se realiza por raspado de la córnea con espátula de platino (espátula de Kimura) e hisopos de algodón; evitando arrastrar gran cantidad de pus. Luego se siembra en medios enriquecidos: agar sangre y agar chocolate y en caldos como el medio de tioglicolato. Se pueden utilizar otros medios bajo la sospecha clínica de hongos, micobacterias y anaerobios. El método de siembra es igual al que se utiliza para diagnóstico de conjuntivitis y los resultados son fidedignos cuando existe desarrollo de un mismo microorganismo en como mínimo dos de los medios de cultivo sembrados o una correlación entre el cultivo y la observación microscópica.
Por último se realizan diferentes coloraciones: Gram, Giemsa, Ziehl-Neelsen. Las coloraciones se realizan después de los cultivos para evitar la contaminación y

la falta de material al momento de la siembra.

Infecciones profundas

Endoftalmitis

Se denomina así a la inflamación de las estructuras profundas del ojo. Suelen aparecer después de una cirugía o por diseminación hematógena de una infección.

Las bacterias son los agentes etiológicos más frecuentes y se relacionan especialmente con bacterias de la microbiota habitual de la región, siendo Staphylococcus epidermidis y Staphylococcus aureus los más frecuentes. Aunque después de una cirugía ocular cualquier otro microorganismo puede involucrar el ojo y sus estructuras internas.

La infección intraocular por vía hematógena es menos frecuente, sin embargo se ha visto compromiso ocular en meningitis.

Los virus, hongos y parásitos pueden también afectar intrínsecamente el ojo. Los agentes virales son Virus Herpes Simplex, Virus Varicela-Zoster, Citomegalovirus, Virus del Sarampión.

Dentro de los hongos y los parásitos se mencionan: Candida albicans, Aspergillus spp., Cryptococcus spp.; Coccidioides inmitis y Toxoplasma gondii (corriorretinitis), Toxocara spp.; respectivamente.

Uveítis

Se denomina así a la inflamación de la úvea (iris, cuerpo ciliar, coroides). Se produce como resultado de un trauma o de una enfermedad local e inclusive sistémica (síndrome de Reiter, artritis reumatoidea). Su etiología puede ser de origen bacteriano, viral y fúngico. En el curso de un episodio de bacteriemia el microorganismo puede "metastizar" en la coroides o la retina. M. tuberculosis, Treponema pallidum y Borrelia burgdorferi pueden causar coriorretinitis, tanto en el polo anterior como posterior. Los virus causales de coriorretinitis y uveítis son el virus del Herpes Simplex (VHS) (necrosis retiniana), el virus Varicela-Zoster (VVZ), el Citomegalovirus (CMV), el virus de Epstein-Barr (EBV) y el virus de la rubéola. Varios parásitos pueden producir patología en la coroides, el más frecuente es Toxoplasma gondii, aunque también podemos encontrar en nuestro medio Toxocara spp. y larvas de Taenia solium.

Retinitis

Las infecciones de la retina son raras aunque pueden producirse generalmente por diseminación hematógena o la llegada del microorganismo desde los tejidos adyacentes. Las infecciones virales se presentan generalmente en pacientes HIV positivos. Citomegalovirus y Herpes Simplex son los más frecuentes.

Toxoplasma gondii es el parásito que con mayor frecuencia afecta la retina.

Diagnóstico microbiológico

No es fácil realizar diagnóstico microbiológico de uveítis y retinitis.

En la endoftalmitis la muestra debe ser tomada en la sala de operaciones bajo microscopio punzando la cámara anterior del ojo para llegar hasta el humor vítreo. Como la muestra es muy escasa (a veces una gota) se debe preconizar el cultivo aunque las coloraciones pueden ser de mucha ayuda para instaurar el tratamiento en el mismo paso.

En los últimos años se comenzó a utilizar la RCP para la detección de bacterias y hongos en estas muestras clínicas.

Traumatismo, cuerpos extraños e infecciones oculares

El ojo, si bien protegido dentro de la cavidad orbitaria, está expuesto a un sinnúmero de accidentes caseros o laborales que lo hace un órgano sensible al ingreso de agentes tanto de la microbiota normal como del medio ambiente. El uso de maquillaje, el ingreso de partículas, las sustancias químicas, los lentes de contacto, las cirugías mismas son algunas de las causas de este desenlace.

Maquillaje

Se ha observado que ciertos elementos usados para maquillaje pueden arrastrar cuerpos extraños, traumatizar el ojo o inclusive ser contaminados con microorganismos. Los lápices delineadores y el rimel pueden producir queratitis. Se ha aislado Pseudomonas aeruginosa de los cepillos de rimel.

Partículas

Arrastran microorganismos de la flora normal ocular y microorganismos exógenos. Son de los más variados: cuerpos extraños metálicos (soldadores, torneros, mecánicos, cortadores), transeúntes, motociclistas (cuerpos despedidos por vehículos en movimiento), partículas vegetales (arrastradas por el viento), insectos, ramas, hojas, uñas, corchos, o cualquier otro instrumento contundente. Producen infección en la córnea.

Químicos
Las radiaciones, el calor, los ácidos, los álcalis, los goteros con colirios contaminados pueden comprometer las estructuras palpebrales y la córnea.

Lentes de contacto
Un 1,5% de los usuarios de lentes de contacto pueden presentar una infección ocular a lo largo de su vida produciendo una queratitis ulcerativa ya sea porque existe una contaminación del estuche o las soluciones de lavado del lente o por el traumatismo que éste ejerce sobre la córnea cuando se prolonga en el uso. Las bacterias Gram negativas son las responsables de la mayoría de estas infecciones: Pseudomonas aeruginosa.

Cirugías oculares
La apertura del ojo en los procesos quirúrgicos puede instaurar una vía de acceso de microorganismos al mismo.
Los transplantes de córnea, las cirugías correctivas, la cirugía de cataratas, la presencia de hilos de sutura pueden producir infecciones oculares por contaminación directa o por infección secundaria.
La sintomatología dependerá del alcance del compromiso ocular. Puede ser profusa o llegar a complicaciones severas como la endoftalmitis.

Agentes etiológicos
Los agentes etiológicos más frecuentemente aislados son: S. epidermidis, S. aureus, S. pneumoniae, S. agalactiae, S. viridans, E. faecalis, P. aeruginosa, Moraxella spp., E. coli, Klebsiella pneumonie, Proteus vulgaris, Enterobacter spp., Neisseria spp. en aquellos procesos que impliquen la llegada de un cuerpo extraño a la córnea y a estructuras más profundas.
Dentro de los hongos, que sólo invaden cuando existe el antecedente previo de traumatismo se encuentran Mucor spp., Rhizopus spp., Aspergillus spp., Fusarium spp., Curvularia spp., Candida spp.

Procedimientos no aceptables
No deben admitirse muestras si han transcurrido más de 24 horas de la toma y sin medio de transporte. No deben procesarse muestras para la investigación de anaerobios si ha transcurrido más de una hora desde la toma o si ésta no se ha conservado en el adecuado medio de transporte reducido. El cultivo de las lentes de contacto o del contenido de las cajas conservadoras de lentes no aporta nada el diagnóstico microbiológico de la queratitis bacteriana o fúngica. Los líquidos conservantes o la superficie de la lente de contacto pueden estar contaminados por microbiota mixta saprofita debido a las costumbres higiénicas del usuario y al contenido del líquido. En menos del 25% de los casos coincide el microorganismo aislado en la lente o en el líquido de lentillas con el aislado de la úlcera corneal.

Diagnóstico de las infecciones oculares por la Biología Molecular
Uno de los problemas más importantes en el diagnóstico microbiológico ocular es la escasa cantidad de material que se puede extraer de la conjuntiva, la córnea, el humor acuoso, el vítreo y la retina.
En ese sentido, la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) es una técnica de laboratorio que permite la obtención de miles de millones de copias de una porción de material genético específico y por lo tanto, es una reacción de mucha utilidad en el diagnóstico microbiológico ocular, ya que nos posibilita obtener una masa de material genético considerable, permitiendo verificar la presencia de un determinado microorganismo en la muestra ocular analizada.
Existen varios motivos que justifican el empleo de la RCP en las infecciones oculares fúngicas. En primer lugar, la sensibilidad del cultivo en los casos de endoftalmitis no es superior al 70% y en las queratitis no supera el 75-80% debido al escaso inóculo. En segundo lugar, el procedimiento de cultivo e identificación puede requerir más de una semana, lo que demora la instauración precoz de un tratamiento adecuado. Por último, es importante evitar la utilización innecesaria de antifúngicos de forma empírica dados los efectos tóxicos de muchos de ellos. Como contrapartida, la utilización de métodos moleculares no permite el estudio de sensibilidad ni la recuperación del aislado con fines epidemiológicos. En estos momentos, la RCP para hongos ofrece como prestaciones una mayor sensibilidad que el cultivo, el diagnóstico de infección fúngica en el mismo día de la toma de muestra y, según el procedimiento llevado a cabo, la identificación de especie en 24 horas. Actualmente no está disponible ninguna técnica comercial validada ni tampoco RCP en tiempo real, pero existe experiencia clínica de varios métodos caseros de RCP convencional en el diagnóstico de infección por Scedosporium spp., Candida spp. y Aspergillus spp. Estos métodos

se basan en la amplificación de las regiones espaciadoras entre los genes ARNr fúngicos, la ITS1 e ITS2, utilizando cebadores que reconocen secuencias conservadas en todos los hongos al final de la subunidad 18S y al principio de la subunidad 28S. En un segundo paso, el análisis de la región ITS2/5,8S ARNr, bien mediante secuenciación o mediante polimorfismo de restricción, permite la identificación de especie gracias a su variabilidad. La emergencia actual de queratitis por Acanthamoeba spp. y la gravedad de estas úlceras han motivado el diseño de métodos moleculares de diagnóstico. Las lesiones producidas por este parásito no siempre tienen una morfología típica en estadios precoces, pudiéndose confundir con queratitis víricas y retrasándose el tratamiento correspondiente. Actualmente no existe un método comercial validado, pero se han diseñado procedimientos de RCP en tiempo real con sondas TaqMan dirigidas a secuencias específicas de la fracción 18S del ARNr. Estas técnicas permiten detectar un bajo número de quistes y trofozoítos en lesiones de portadores de lentes de contacto.

Los reactivos son sometidos a distintas temperaturas en un equipo denominado "termociclador". Estos cambios de temperatura logran las condiciones para que se produzcan eventos de desnaturalización del material genético, la unión de los cebadores y la síntesis de las copias del molde.

Las ventajas más significativas de la RCP son:

Especificidad: se establecen condiciones de la reacción muy estrictas, de manera que sólo se pueda amplificar el microorganismo que estamos buscando detectar.

Sensibilidad: permite la detección de cantidades muy pequeñas del material genético buscado. Esta es una gran ventaja sobre otros métodos.

Velocidad: se puede realizar todo el procesamiento de la muestra en tiempos menores que con otras técnicas diagnósticas (por ejemplo, cultivo de bacterias u hongos o aislamiento de virus a partir del crecimiento en cultivos celulares).

Versatilidad: se puede aplicar esta técnica para el diagnóstico de innumerables microorganismos.

La técnica de RCP se ha ido modificando para responder a las distintas necesidades del diagnóstico. Se mencionan, como algunas de las variantes más importantes, a las siguientes:

RCP anidada o nested: esta modificación consiste en una amplificación de una parte de un producto de una reacción de RCP realizada con anterioridad. El producto obtenido está comprendido dentro de la secuencia del producto de la primera ronda. Esta modificación permite aumentar significativamente la sensibilidad y la especificidad de la reacción de la RCP.

Multiplex: con esta modificación es posible la detección de la presencia de dos o más microorganismos en forma simultánea en una sola reacción. Esta modificación permite descartar rápidamente la infección por los patógenos habitualmente responsables de los cuadros que se quiere diagnosticar. Para poder aprovechar todas las ventajas de esta técnica, es necesario respetar cuidadosamente las instrucciones de toma de muestra, conservación y condiciones para el envío al laboratorio ya que es una reacción muy sensible a la presencia de inhibidores y contaminantes.

Vale destacar que en Argentina se efectúa la técnica de RCP -convencional o multiplex- para varios patógenos oculares.

En conjuntivitis, Chlamydia trachomatis, Adenovirus, Enterovirus 70 y Herpes Simplex 1 (HS-1). En muestras de córnea para Acanthamoeba spp., HS-1, S. aureus, etc.

En endoftalmitis crónicas, en humor acuoso y vítreo. P. acnes, S. epidermis, S. aureus.

En uveítis: HS-1, Varicela-Zoster, Citomegalovirus, Epstein-Barr, Borrelia burgdorferi, Mycobacterium tuberculosis, Toxoplasma gondii, Toxocara, linfoma intraocular (diagnóstico del gen CDR3de IgH), bacilo de Whipple y Treponema pallidum.

Bibliografía

• American Academy of Ophthalmology. Summary benchmarks for preferred practice pattern guidelines. November 2008. http://one.aao.org.

• Cortázar, J. 1963. Rayuela. Pantheon Books. Editorial Sudamericana, Buenos Aires, Argentina.

• Forbes, B., Sahm, D. et al. 2009. Bailey & Scott Diagnóstico Microbiológico. Ed. Panamericana. 12va. Edición. Buenos Aires, República Argentina.

• Littvik, A y col. 2015. Tras las Huellas de un Mundo Invisible. Sima Editora 5ª Ed. Córdoba,

• República Argentina.Merayo-Lloves J, Torres R, Berra A.Estudios de Laboratorio de Superficie Ocular. In book: Superficie Ocular, Edition: 1.ª edición. Sociedad Española de Oftalmología 2004, Madrid, Mac Line, S.L. Editors: José M.ª Benítez del Castillo Sánchez, Juan A. Durán de la Colina, María Teresa

Rodríguez Ares, pp.13-21.

• Prats, G. Microbiología, Virología y Parasitología. 2013. Ed. Panamericana. EAN: 9788498356885. Madrid, España.

• Soc. Esp. de Enf. Infec. y Microbiol. 2006. Clín. Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Madrid, España. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Ed. Panamericana. © 2006 EAN: 9788479039219.

• Tortora, G. et al. Introducción a la Microbiología. 2017. Editorial Panamericana, 12ª Ed. CABA, Argentina.

Capítulo 16
Infecciones del tracto urinario (ITU)

Introducción

La infección del tracto urinario (ITU) es una de las infecciones más comunes en la población general.

Su importancia obedece a varias razones. En pacientes ambulatorios ocupa el segundo lugar en frecuencia luego de las infecciones respiratorias, en tanto que en pacientes internados constituye la localización más frecuente de infección nosocomial, consecuencia de la instrumentación con sonda vesical. En pediatría la ITU tiene una connotación muy especial como factor desencadenante de cicatrices renales: el subdiagnóstico o la demora en el diagnóstico puede ser determinante del futuro de la función renal. Por otra parte, el sobrediagnóstico de ITU en los niños induce a la utilización de procedimientos diagnósticos invasivos y terapéutica antimicrobiana innecesarias.

En el embarazo adquiere un significado trascendente por sus complicaciones en la madre y el producto de la concepción (amenaza de aborto, parto prematuro).

La infección del tracto urinario se define como la colonización, multiplicación e invasion de microorganismos, habitualmente bacterianos, a lo largo del tracto urinario.

Se las puede clasificar como altas cuando afectan el al riñón y a la pelvis renal produciendo pielonefritis, nefritis aguda focal o difusa, abscesos perinefríticos o intrarrenales; bajas denominándose cistitis si implica a la vejiga; uretritis si afecta a la uretra y prostatitis si se localiza en la próstata.

A su vez pueden ser:

ITU no complicada: se observa en mujeres jóvenes, sanas, en edad fértil, no embarazadas y que tienen manifestaciones clínicas de cistitis de menos de una semana de evolución. Son infecciones que tienen un mínimo riesgo de invasión tisular y con la previsión de respuesta a tratamiento corto (3 días).

En estas infecciones el patógeno más común es Escherichia coli (> del 80%) la cual presenta un gran número de factores de virulencia.

ITU complicada: es la que ocurre en personas con vía urinaria anormal (vejiga neurogénica, reflujo vesico ureteral, cálculos, embarazo) o con una vía normal, pero con alteraciones asociadas (diabetes, inmunosupresión, manipulación urinaria, hospitalizados, varones, ancianos, etc.). Son infecciones que tienen un mayor riesgo de afectación renal, de fallo del tratamiento y de sepsis.

En estos casos hay una mayor variedad de agentes etiológicos, siendo de todas formas Escherichia coli la más frecuente, pero con menos factores de virulencia.

Se pueden producir por vía canalicular, ascendente o retrógrada, o por diseminación, hematógena o linfática; siendo la vía ascendente la forma más frecuente.

Conceptos importantes

Bacteriuria: presencia de bacterias en la orina emitida independientemente si se produce por infección o por contaminación.

En la orina emitida pueden encontrarse bacterias sin que exista ITU, como consecuencia de la contaminación con flora normal al pasar por la uretra o contacto con genitales externos, por recolección incorrecta (recipientes no estériles) o por contaminación y multiplicación bacteriana entre la recolección y el procesamiento (debido a conservación o transporte inadecuados).

Bacteriuria significativa: es un concepto que se refiere al hallazgo, (por técnicas microbiológicas) en una orina correctamente obtenida y conservada, de un número de bacterias que indique que existe una ITU y no sólo contaminación, la que puede producirse al obtener la muestra, o al conservarla inadecuadamente.

Piuria (Leucocituria): es la presencia de una cantidad anormal de leucocitos en orina, indica respues¬ta inflamatoria del tracto urinario, la que se produce en la mayoría de las veces, debido a invasión tisular por bacterias.

Bacteriuria asintomática: se refiere a la presencia de bacteriuria significativa (con recuentos mayores o iguales a 10^5 UFC/ ml), con piuria, en dos muestras de orina y en ausencia de síntomas de infección. Es una de las causas más frecuentes de uso inadecuado de antibióticos. Solo debe ser tratada en mujeres embarazadas para evitar que ésta progrese a pielonefritis y además, se transforme en un factor de riesgo para desencadenar un parto pretérmino que como consecuencia puede ocasionar prematuridad, peso bajo e inmadurez orgánica.

Síndrome uretral agudo o síndrome disuria-pola-

quiuria: se define como la presencia en una mujer de síntomas de infección del tracto urinario (disuria y frecuencia miccional) con piuria, con urocultivo negativo o bacteriuria baja, no significativa ($<10^3$ UFC/ml). En la mayoría de los casos se debe a patógenos de transmisión sexual, como Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum, Neisseria gonorrhoeae o Herpes simple.

Son datos clínicos sugestivos: paciente joven, sexualmente activa, síntomas de instauración lenta (>7 días), ausencia de otros signos de inflamación vesical como molestias suprapúbicas y microhematuria, cambio reciente de pareja sexual o si ésta tuvo un episodio de uretritis, coexistencia de cervicitis mucopurulenta.

ITU recurrentes: las recidivas pueden clasificarse en recaídas o reinfecciones.

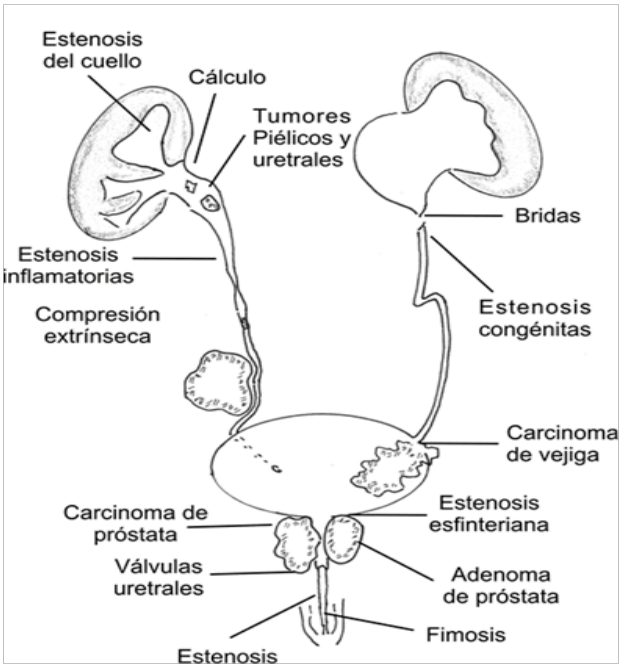
Las recaídas son las recidivas de una infección urinaria por el mismo microorganismo poco tiempo después (usualmente 2 a 4 semanas) de finalizado el tra¬tamiento adecuado de la ITU primaria. Puede indicar una falla terapéutica o presencia de alteraciones funcionales, metabólicas o estructurales del tracto urinario (litiasis, hipertrofia prostática, diabetes, trasplantados).

Las reinfecciones son aquellas que se producen por un nuevo microorganismo, ocurren en cualquier momento luego de finalizado el tratamiento. Estos microorganismos pueden ser de diferente género, diferente especie, o incluso de la misma especie, pero diferente biotipo; lo que significa que para establecer la identidad de los aislamientos no solo hay que determinar género y especie, sino realizar biotipificación, serotipificación, antibiotipificación e incluso estu¬dios genéticos.

Epidemiología

Las infecciones del tracto urinario siguen en frecuencia a las del aparato respiratorio como patología adquirida en la comunidad y son las infecciones más frecuentes en el ámbito hospitalario. Si bien pueden ocurrir a cualquier edad afectando tanto a hombres como mujeres son más frecuentes en el sexo femenino,1 de cada 3 mujeres desarrollará una infección urinaria que requerirá tratamiento con antibióticos antes de los 24 años y al menos el 50% tendrá una ITU durante su vida, relacionados con la actividad sexual, los embarazos y la edad.

En el varón, la infección del tracto urinario tiene su mayor incidencia en los extremos de la vida, durante el primer año de vida en relación a defectos estructurales del aparato urinario, reflujo vesicoureteral o displasia o hipoplasia renal y en mayores de 50 años, en relación con la presencia de alteraciones prostáticas o manipulaciones urológicas.



Las ITU son complicaciones frecuentes del embarazo, diabetes, enfermedad renal poliquística, trasplante renal y en toda alteración estructural o funcional del tracto urinario que impida el normal flujo de orina (sea congénita o adquirida).

La pielonefritis constituye la causa más frecuente de insuficiencia renal crónica.

En el ámbito hospitalario representan el 40% de las infecciones nosocomiales, usualmente asociadas a sondas urinarias, pudiendo ocurrir a cualquier edad y en cualquier sexo, siendo más frecuentes en pacientes hospitalizados.

En estos últimos son la causa principal de bacteriemias por bacilos Gram negativos.

Las bacterias que producen ITU poseen varios factores de virulencia que intervienen en la fisiopatogenia de estas infecciones. Entre ellos se pueden mencionar estructuras como pilis, flagelos, producción de enzimas como hemolisinas y ureasa.

Clasificación

De acuerdo a la localización anatómica las infecciones del tracto urinario (ITU) se clasifican en ITU altas

(pielonefritis) e ITU bajas (cistitis, uretritis, prostatitis), de ellas en primer lugar las más frecuentes son las cistitis y en segundo lugar las pielonefritis.

Las ITU pueden localizarse en:
ITU Bajas
Uretra.....Uretritis
Si bien la uretra es parte del tracto urinario, los microorganismos que producen uretritis son con mayor frecuencia adquiridos por vía sexual. (Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis).
Vejiga.....Cistitis
Próstata.....Prostatitis

ITU Altas
Riñón.....Pielonefritis
Tejidos que rodean al riñón.....Perinefritis

Esta diferenciación topográfica es fundamental ya que si está comprometido el parén¬quima renal el pronóstico y el tratamiento son diferentes.
Las localizaciones altas de ITU pueden cursar con bacteriemia.

Agentes etiológicos
En orden de frecuencia los agentes más aislados en pacientes con ITU son:
Escherichia coli
Proteus mirabilis
Klebsiella spp. - Enterobacter spp.
Enterococcus spp.
Staphylococcus saprophyticus
Pseudomonas aeruginosa

Más del 90% los uropatógenos son bacilos Gram negativos (de la familia Enterobacteriaceae), que pertenecen a la microbiota del colon y que colonizan el perineo y el meato uretral.
Su frecuencia varía según la situación del paciente: ambulatorio o internado.
Escherichia coli: es el más frecuente e importante tanto en pacientes ambulatorios como internados; en éste último caso las cepas son más resistentes a los antimicrobianos.
Proteus mirabilis: puede ser tan frecuente como E. coli en niños mayores. Tiene ureasa que desdobla la urea a amoníaco y alcaliniza la orina, se asocia con cálculos urinarios.
Klebsiella pneumoniae: suele ser más prevalente en las recurrencias que en los primeros episodios de ITU.
Staphylococcus saprophyticus: es el segundo agente etiológico en mujeres jóvenes entre 16 a 25 años.
Klebsiella spp. - Enterobacter spp.: en pacientes sondados con factores predisponentes, como insuficiencia o trasplante renal.
Enterococcus spp.: pacientes ambulatorios mayores de 60 años varones, trasplantados y en el 10% de niños con una patología de base predisponente.
Pseudomonas aeruginosa: en pacientes internados y con procedimientos urológicos: sonda vesical, cistoscopía y cirugía prostática.

Otros agentes etiológicos son:
Providencia spp. y Morganella morganii: se aíslan frecuentemente de pacientes con sonda de larga permanencia y tratamiento antibiótico previo.
Streptococcus agalactiae: es frecuente encontrarlo en embarazadas, incluso dando bacteriuria asintomática.
Corynebacterium urealyticum: ha sido reconocido como patógeno urinario importante, de intensa actividad ureásica, que favorece la formación de cálculos (cistitis incrustante). Se lo aísla en pacientes instrumentados y sometidos a tratamiento con antimicrobianos.
Staphylococcus epidermidis y otras especies de estafilococos coagulasa negativa también se han descripto recientemente como causa de infección en el aparato urinario.
En las infecciones urinarias por Salmonella spp., Candida spp.y Staphylococcus spp. , siempre pensar en siembra hematógena.

Los gérmenes anaerobios son raros en las vías urinarias, por la elevada tensión de oxígeno en la orina.

En cuanto a los virus, éstos no son agentes frecuentes de ITU.
Adenovirus serotipos 11 y 21, causan cistitis hemorrágicas en la primera infancia.
Citomegalovirus, Virus BK y Virus JC persisten en el tejido renal con la posibilidad de reactivar en determinadas situaciones como ante un trasplante renal, o una situación de inmunocompromiso, manifestándose en éstos casos, a través de rechazos del órgano implantado, cistitis hemorrágicas o nefropatía.
Hantavirus, pertenece a la familia Bunyaviridae y es agente etiológico de una fiebre hemorrágica asociada a síndrome renal (FHSR) que es endémica en Europa y Asia.

Diagnóstico microbiológico (ver video de urocultivo)
Debido a que no se puede confirmar la presencia de infección únicamente por la clínica, es necesario recurrir al laboratorio de microbiología para conocer no solo cuál es el agente etiológico, sino también su sensibilidad a los antimicrobianos.

Recolección de la Muestra
Muestra: orina. Debe ser recogida en un frasco estéril de boca ancha y tapa a rosca.

Técnicas de recolección:
1) CHORRO MEDIO
2) PUNCIÓN SUPRAPÚBICA (PSP)
3) CATETERIZACIÓN
4) PUNCIÓN DE SONDA

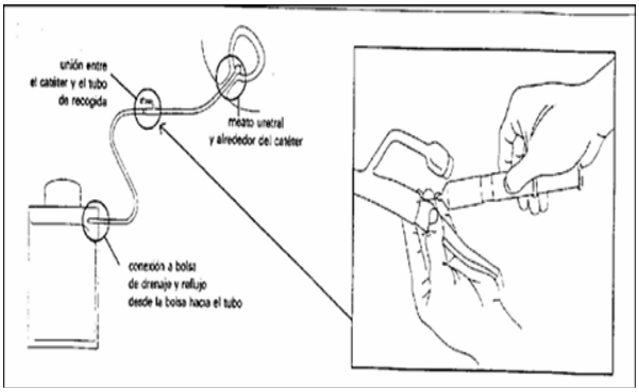
1-Chorro medio por micción espontánea
Se realiza en niños y adultos que controlan esfínteres, y en niños que no controlan esfínteres (técnica al acecho).
Esta técnica se denomina así debido a que el primer chorro, que lava la uretra reduciendo el número de microorganismos pertenecientes a la microbiota normal, se elimina mientras que se recoge el segundo chorro o chorro medio, que presenta un número menor de gérmenes. Recordar entonces que esta no es una muestra estéril.
Debe tenerse en cuenta requerir al paciente un tiempo de retención mínimo de 3 horas.
Una buena técnica de recolección reduce la contaminación, por lo tanto, es muy importante respetar la metodología para la misma.
Mujeres: Primero colocar tapón vaginal (torunda de gasa o algodón), higienizar la zona genital con agua y jabón, de adelante hacia atrás, secar con toalla limpia. Se descarta el primer chorro (10 ml) y se recolecta en frasco estéril la fracción siguiente (10 a 20 ml). Se recomienda orinar separando los labios mayores.
Hombres: se debe retraer el prepucio e higienizar el glande y surco balano prepucial con agua y jabón, y secar con toalla limpia; procediendo como en el caso anterior.
Lactantes: el método es chorro medio al acecho. Se desviste al niño desde la cintura hacia abajo (previa administración de líquido), se higieniza como se describe anteriormente y se aguarda la salida del chorro urinario, recolectándose el chorro del medio en frasco estéril. Nunca utilizar bolsas recolectoras.
Se desaconseja el uso de antisépticos, ya que pueden afectar el resultado del cultivo, provocando un descenso en el recuento de colonias.

2- Punción suprapúbica (PSP)
Se practica en neonatos. Este procedimiento deberá ser efectuado por médicos entrenados. Las situaciones clínicas en las cuales se hace necesaria la recolección de orina por medio de esta técnica son: sospecha de ITU en neonatos, pacientes cuyos urocultivos previos presenten resultados conflictivos, sospecha de microorganismos de difícil desarrollo (anaerobios, variantes bacterianas de pared defectuosa, Mycoplasma spp.) y confirmación de candiduria. Primeramente, se verifica que el paciente presente globo vesical palpable, se antisepsia la piel de la zona pubiana con alcohol iodado y se deja actuar 1 minuto, se limpia con alcohol 70% y se punza con aguja adecuada en la zona ubicada 1 a 2 centímetros por encima de la sínfisis pubiana. Se aspira la orina y se coloca en frasco estéril.

3- Cateterización
Es una técnica que ha caído en desuso debido al riesgo de provocar el ascenso de microorganismos desde la uretra a la vejiga y provocar una ITU iatrogénica. Se realiza en aquellos casos donde no es posible recoger adecuadamente el chorro medio ni realizar PSP, como, por ejemplo, pacientes con vejiga neurogénica sin sonda permanente. La técnica debe ser cuidadosa, aséptica y efectuada por personal capacitado.

4- Punción de sonda
Nunca tomar la orina que fluye del extremo distal de una sonda.
La punción de sonda vesical se utiliza en aquellos enfermos sondados en forma permanente o transitoria. Se obtura la sonda con una pinza, se desinfecta la parte externa de la sonda en la zona proximal con alcohol iodado y se punza con aguja y jeringa estériles. Se vuelca el contenido en forma aséptica en un frasco estéril. Si la sonda tiene más de 72 horas de colocada y

es posible, se recomienda cambiarla para realizar este procedimiento, debido a que al cabo de este período de tiempo se produce colonización de la sonda con microorganismos.



Conservación de la Muestra
La muestra para urocultivo debe refrigerarse a 4-8º C (heladera) inmediatamente después de recolectada. Si el traslado al laboratorio demora más de 15 minutos, debe transportarse el frasco dentro de un contenedor con hielo.

Procesamiento del Urocultivo (VIDEO DE UN UROCULTIVO)
Antes de abocarse al estudio de la muestra, el microbiólogo debería conocer algunos datos concernientes a la muestra y al paciente, que resultan de suma utilidad para el procesamiento y la interpretación de los resultados.

Del paciente
• Edad
• Sexo
• Síntomas
• Factor predisponente
• Antecedentes de infección urinaria
• Medicación actual o previa (antimicrobianos)

De la muestra
• Técnica de obtención
• Conservación de la misma

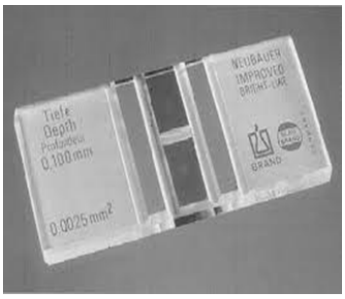
1. DETERMINACIÓN DE pH y DENSIDAD

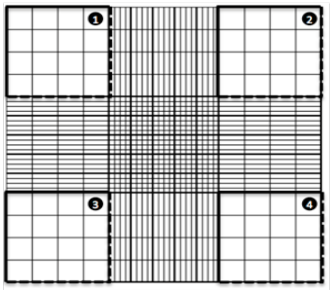
2. SEDIMENTO
3. COLORACIÓN DE GRAM
4. CULTIVO
5. IDENTIFICACIÓN YANTIBIOGRAMA

Sedimento

El sedimento de la orina, realizado con una muestra correctamente recolectada, es una herramienta fundamental para la interpretación del urocultivo.
Se considera que en un sedimento de orina hay piuria cuando una gota del centrifugado de 10 ml de orina contiene más de 5 leucocitos por campo de 400X en el adulto, y más de 3 leucocitos por campo de 400X si se trata de un paciente pediátrico.
En el sedimento también tiene importancia la observación microscópica de:
• Hematíes
• Cilindros
• Células epiteliales

El recuento de leucocitos también puede realizarse en una orina sin centrifugar utilizando la cámara de Neubauer, definiendo piuria cuando hay entre 8 a 10 leucocitos por mm3 de orina.

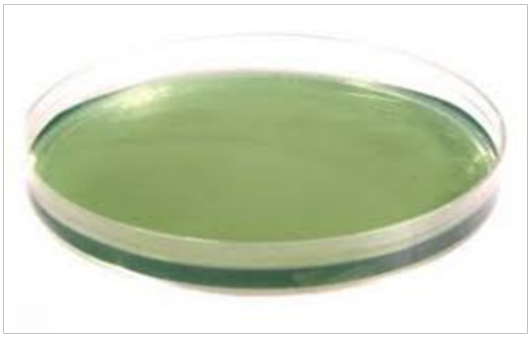




Coloración de Gram

Es bien conocido que la presencia de un microorganismo por campo de 1.000X en la coloración de Gram de una gota de orina sin centrifugar se correlaciona con un cultivo de más de 100.000 UFC (>10^5) por ml. Puede ser de utilidad en la documentación rápida de una bacteriuria significativa e iniciar el tratamiento antimicrobiano adecuado. Sin embargo, esta importante ventaja va acompañada de inconvenientes, principalmente su baja sensibilidad para concentraciones por debajo de 10^5 UFC/ml, que la invalida en el diagnóstico de la IU no complicada donde recuentos entre 10^2 y 10^4 UFC/ml pueden ser frecuentes.

Cultivo



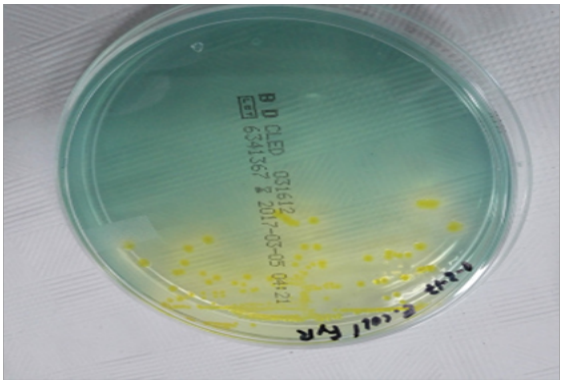
La muestra se siembra sin centrifugar con ansa calibrada (que carga un determinado volumen de orina) en CLED (cistina-lactosa-electrolitos deficientes), medio de cultivo multipropósito y diferencial en el que desarrollan la mayoría de los agentes etiológicos. Esta técnica permite realizar el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) por ml. En general una UFC representa una bacteria viable; cada bacteria al desarrollar origina una colonia, por lo que se considera que cada bacteria es una "unidad formadora de colonia" (UFC).

El medio sembrado se incuba a 35-37º C durante 24 hs., luego se cuenta el número de colonias que han desarrollado, este número se multiplica por el factor de dilución del ansa, obteniéndose así el número de colonias por mililitro de orina.

El informe se expresa con base 10 en potenciales, por ejemplo: si desarrollaron 10.000 UFC/ml de orina, se informa 10^4 UFC/ml.

Existe otra forma de sembrar la orina, con la cual se simplifica la realización del recuento. Consiste en la siembra en tres estrías, una a continuación de la otra, utilizando también ansa calibrada.

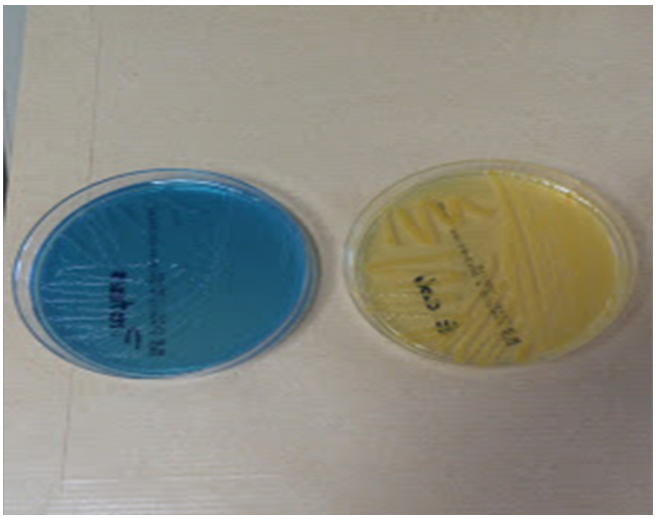
Al cabo de las 24 horas de incubación, si se obtuvo desarrollo bacteriano sólo sobre la primera estría, se considera que el recuento corresponde a 1.000 UFC/ml o 10^3 UFC/ml de orina. Si además hay desarrollo en la segunda estría, el recuento es de 10.000 U FC/ml o 10^4 UFC/ml de orina, y si las tres estrías presentan desarrollo de colonias, se considera un recuento de 100.000 o 10^5 UFC/ml de orina.



Este método simplificado para el recuento de las UFC ha sido adecuadamente comparado con el método descripto anteriormente, y provee similares resultados, excepto cuando el número de UFC presentes en la orina es muy bajo.

En el caso de las muestras obtenidas por PSP y punción de sonda, los recuentos válidos para el diagnóstico de ITU son 10^3 y 10^2 UFC/ml, respectivamente.

Este medio de cultivo permite reconocer rápidamente si las bacterias que han desarrollado fermentan o no la lactosa al observar el color que adquiere la colonia. Aquellas bacterias lactosa positivas darán colonias amarillas mientras que las negativas darán colonias incoloras.



Identificación bacteriana y Pruebas de sensibilidad
Una vez que se ha determinado que un cultivo es significativo, el microbiólogo realiza la identificación de la cepa bacteriana y el antibiograma por difusión (en la mayoría de los casos resulta suficiente).

Interpretación de los resultados e informes
El criterio clásico de interpretación descrito por Kass y col. (1956) considera que recuentos de $>10^5$ UFC/ml en una orina recolectada por chorro medio corresponde a una bacteriuria significativa y puede ser aplicado a la mayoría de las muestras en las que se solicita el cultivo. Sin embargo, en determinadas circunstancias se admite la existencia de IU con recuentos muy inferiores como son:
-En orinas obtenidas por punción suprapúbica o que proceden del riñón, cualquier recuento es indicativo de infección.
- En mujeres jóvenes con síndrome uretral agudo y piuria, se considera significativo el hallazgo de $>10^2$ UFC/ml.
- En varones, son significativos recuentos de $>10^3$ UFC/ml con piuria.
- En orinas obtenidas a partir de sonda vesical, se consideran significativos recuentos $>10^3$ UFC/ml de cualquier microorganismo en cultivo puro.

La mayoría de las ITU son monomicrobianas, es decir, se recupera un único microorganismo de la orina, las ITU mixtas, producida por 2 o más gérmenes, son extremadamente infrecuente (<0,3%) en pacientes ambulatorios no son-dados.
Descartando la contaminación de la muestra, para confirmar una ITU mixta se requieren 2 muestras de orina correctamente recolectadas. Estos pacientes usualmente presentan infecciones complicadas con litiasis, abscesos renales o un sondaje prolongado.
Por lo tanto, la confirmación de una ITU debe realizarse teniendo en cuenta los hallazgos de laboratorio asociados a los clínicos y epidemiológicos. No existe un punto de corte fijo para determinar si un recuento corresponde a bacteriuria significativa que se aplique a todos los casos.

Causas comunes de errores en los urocultivos
Falsos positivos
Contaminación (uretral, vaginal, fecal, sonda vesical)
Orina no refrigerada

Falsos negativos
Retención insuficiente
Baja densidad urinaria (< 1.003)
pH extremo (5 < ó > 8,5) Obstrucción urinaria Antibioticoterapia previa
Formas L o VBPD (Variantes Bacterianas de Pared Defectuosa)

Bibliografía

• European Manual of Clinical Microbiology. 1st Edition. 2012. ISBN 978-2-87805-026-4.
• Lopardo, H. Urocultivo: procesamiento, criterio de interpretación e informe. Apuntes de Laboratorio Volumen 3. Britania. www.britanialab.com.
• Diagnóstico Microbiológico de las Infecciones Urinarias. Inmaculada de Toro-Peinadoa, M. Concepción Mediavilla-Gradolpha, Nuria Tormo-Palopb, Begoña Palop-Borrá. 2015. Enfermedaes Infecciosas y Microbiología Clínica 33:34-39.

Capítulo 17
Infecciones de transmision sexual (ITS)

Introducción

Las infecciones de transmisión sexual (ITS), como se las conoce en la actualidad, antiguamente llamadas enfermedades de transmisión sexual (ETS) o enfermedades venéreas; constituyen un grupo de enfermedades infectocontagiosas agudas o crónicas que tienen en común su modo de transmisión, el cual reviste importancia epidemiológica.

El cambio de nombre se debe a que la gran mayoría de estas infecciones cursan de manera asintomática, por lo que no podrían entrar en la clasificación de enfermedades de transmisión sexual pero sí en la de infecciones.

No hay enfermedades tan antiguas, mundanas y cosmopolitas como las ITS. La permanencia y aumento de su incidencia se debe a diversos factores: comienzo precoz de las relaciones sexuales, promiscuidad, drogadicción, reemplazo de los métodos anticonceptivos de barrera por métodos químicos u hormonales, carencias de campañas de prevención, nuevos patro¬nes de sensibilidad bacterianos por adquisición de resistencia a los antimicrobianos.

Se reconocen complicaciones severas de estas infecciones que pueden manifestarse en el individuo hasta varios años después de adquiridas: infertilidad, embarazos ectópicos, neoplasias genitales, estrechez uretral, afección neonatal por infección vertical, dolor pélvico crónico; incluso muchas de ellas están clínica y conductualmente interrelacionadas. Se postula que la inflamación local producida por algunos virus o bacterias de transmisión sexual facilitaría la entrada al organismo del Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH). Todas son razones más que suficientes para no subestimar la importancia del diagnóstico precoz de las ITS, permitiendo así instaurar un tratamiento adecuado y oportuno, evitando secuelas orgánicas individuales y previniendo su diseminación en la comunidad.

Características generales

La mayor parte de los microorganismos ingresan en el hombre por sitios locales a través de las capas epitelial escamosa o mucosa (vagina, endocérvix, uretra, recto, orofaringe).

Algunos lo hacen por otras vías como la vía parenteral (drogadicción, transfusiones).

Casi todos los agentes son relativamente sensibles a los factores químicos y físicos y prácticamente nunca se hallan en el medio ambiente. Además tienen gran capacidad para resistir a los mecanismos de defensa inespecíficos del hospedero y son capaces de adherirse con relativa facilidad a los tejidos y de ingresar en ellos.

El hecho que las manifestaciones crónicas sean relativamente frecuentes constituye una indicación de que a menudo los microorganismos causan infecciones asintomáticas y no son fácilmente eliminados por el sistema inmune específico.

Microbiota del tracto genital

Para acceder al estudio de las ITS debemos partir del conocimiento de la microbiota de las zonas normalmente colonizadas del tracto genital masculino (uretra anterior) y femenino (introito, vagina y endocérvix).

Tracto genital masculino (uretra anterior)

Constituída por Staphylococcus spp., Streptococcus spp., Corynebacterium spp., Neisseria spp (saprófitas), micobacterias.

Vagina

Constituye un verdadero ecosistema cuya composición depende de diversos factores:

a) Edad: perinatal, lactantes y niñas hasta la menarca, menarca, edad reproductiva, post-menopausia.

b) Condiciones fisiológicas: ciclo menstrual, embarazo, puerperio.

c) Situaciones especiales: uso de tampones, toallas higiénicas, DIU, antimicrobianos, contraceptivos orales.

La microbiota vaginal se puede clasificar en:

a. Microbiota permanente: microorganismos endógenos que se recuperan durante todo el ciclo hormonal en una mujer en edad fértil: Lactobacillus spp., Corynebacterium spp., etc.

b. Microbiota intermitente o transitoria: microorganismos endógenos presentes en algún período del ciclo menstrual en forma transitoria o intermitente: Ureaplasma urealyticum, Cándida spp., Gardnerella vaginalis, Streptococcus agalactiae.

La microbiota vaginal normal constituye una barrera defensiva fisiológica que impide a los microorganismos endógenos proliferar e infectar, y a los exógenos ingresar.

Conocer la composición y los mecanismos de regulación de la microbiota vaginal es importante para

comprender la fisiopatogenia de las enfermedades y poder interpretar los resultados de los estudios microbiológicos

Existen microorganismos exógenos cuya sola presencia indica infección: Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Trichomonas vaginalis, Haemophilus ducreyi y Treponema pallidum.

Clasificación de las ITS

Las ITS pueden clasificarse según diferentes criterios:

1. Según los agentes etiológicos:

Bacterianas	Treponema pallidum Chlamydia trachomatis Haemophilus ducreyi Klebsiella granulomatis Mycoplasma genitalium Neisseria gonorrhoeae
Virales	Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) Virus de Hepatitis B, C, D. (A, E) Herpes Simplex tipo I y II HTLV 1 y 2 Virus Papiloma Humano (VPH) Molluscum contagiosum
Parasitarias	Trichomonas vaginalis Ptirius pubis Sarcoptes scabiei

2. Según la clínica a nivel genital:

Lesiones exudativas	N.gonorrhoeae C.trachomatis (genotipos D a K) M. genitalium T. vaginalis
Lesiones proliferativas	C. trachomatis (genotipos L1, L2 y L3) T. pallidum (Sífilis secundaria) VPH K.granulomatis M.contagiusum
Lesiones ulcerativas	T. pallidum (Sífilis primaria) H. ducreyi K.granulomatis Herpes Simplex
Lesiones vesiculares	Herpes Simplex
Sin manifestaciones clínicas	VIH tipo 1 y tipo 2 Virus Hepatitis A, B, C, D, y E Citomegalovirus HTLV 1 y 2

Diagnóstico microbiológico de las ITS

Nos referiremos en general a las distintas muestras clínicas que se pueden obtener para hacer el diagnóstico de las diferentes ITS, teniendo en cuenta la localización y la lesión en el hombre y en la mujer.

Se debe tener especial cuidado para recuperar el patógeno, diferenciándolo de la flora normal. Las muestras clínicas apropiadas del tracto genital femenino y masculino se detallan en los siguientes cuadros.

Tracto genital femenino

	Muestra Clínica
Glándula de Bartolino	Punción aspiración con aguja y jeringa
Vagina	Hisopado de fondo de saco vaginal
Endocérvix	Hisopado de canal endocervical
Endometrio	Aspirado transcervical con catéter
Trompas	Punción aspiración de abscesos
Enfermedad pélvica inflamatoria	Punción aspiración de fondo de saco de Douglas
Uretra	Hisopado uretral
Úlcera genital	Hisopado de la base (para Herpes y H.ducreyi)
Vesícula genital	Punción aspiración
Lesiones proliferativas de cualquier localización	Raspado, otras técnicas

Tracto genital masculino

	Muestra clínica
Uretra	hisopado uretral
Testículo	semen
Próstata	Exudado por expresión prostática con técnica de las cuatro muestras en prostatitis crónicas
Úlcera genital	Raspado del borde de la lesión (para T. pallidum) Hisopado de la base (Herpes y H. ducreyi)
Vesícula genital	Punción aspiración

Gonorrea (Blenorragia): Se denomina así a la infec-

ción causada por Neisseria gonorrhoeae de localización genital.
Gonococcia: Este término se refiere a todas las infecciones causadas por Neiserria gonorrhoeae.

Neisseria gonorrhoeae
Es un diplococo Gram negativo microaerófilo que no forma parte de la microbiota normal. En el aparato genitourinario tiene predilección por el epitelio columnar (cérvix, uretra, glándulas parauretrales), pudiendo también adherirse a las células de la conjuntiva y de las criptas anales y faríngeas.
Es una infección exclusivamente humana que se transmite sólo por contacto sexual o de forma perinatal.
Produce numerosos cuadros clínicos que pueden ser clasificados en genitales y extragenitales.

Infección gonocócica femenina
El lugar primario de infección es el endocérvix, manifestándose con secreción cervical purulenta, la cual puede pasar desapercibida (infección asintomática: 80%), permitiendo el ascenso del microorganismo a otros órganos.
Las infecciones genitales en la mujer siguen la vía ascendente pudiendo afectar prácticamente todos los órganos del tracto genital femenino, e incluso llegar hasta la cavidad peritoneal para producir enfermedad pélvica inflamatoria (EPI).

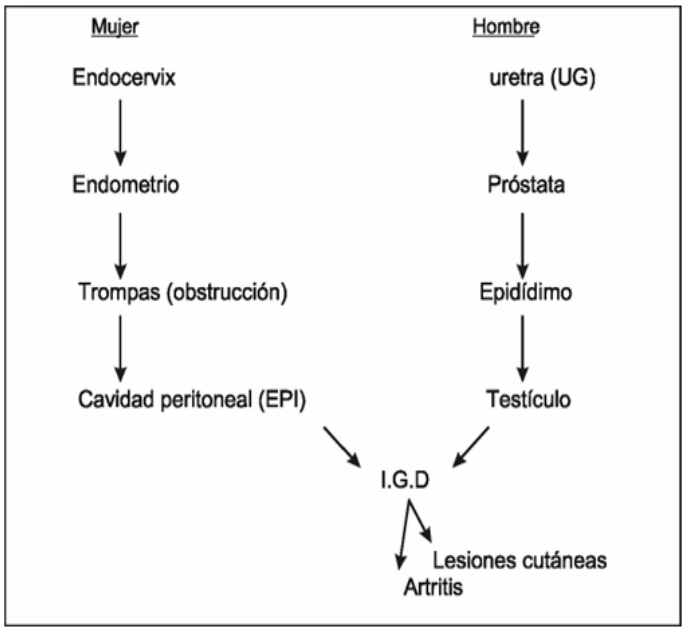
Endocérvix	Cervicitis
Uretra	Uretritis
Endometrio	Endometritis
Glándula de Bartholino	Bartholinitis
Anexos (Ovarios-trompas)	Anexitis (ooforitis y salpingitis) EPI
Peritoneo-pelviano	Pelviperitonitis EPI
Recto	Proctitis

Infección gonocócica masculina
Presenta un período de incubación de 2 a 7 días, manifestándose con una secreción generalmente purulenta y disuria (ardor miccional). En el hombre la infección gonocócica sigue también la vía canalicular ascendente. Si la infección persiste durante un tiempo aproximado de ocho semanas puede afectar otros órganos produciendo prostatitis, epididimitis y complicarse con estrechez uretral.
N. gonorrhoeae puede quedar acantonada en la próstata. En hombres que tienen sexo con hombres la localización más frecuente es en el recto, produciendo proctitis.
Localizaciones:

Uretra	Uretritis
Testículo y epidimio	Orquiepididimitis
Próstata	Prostatitis
Recto	Proctitis

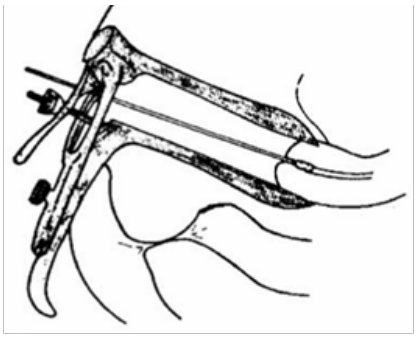
Es claro que las mucosas genitales y orales son muy parecidas; es por esto que no es raro encontrar a este microorganismo produciendo faringitis. En ambos sexos la aparición de este cuadro se sospechará e investigará dependiendo de los hábitos sexuales del paciente.

Complicaciones
• Infección Gonocócica Diseminada (IGD): Se produce en un muy pequeño porcentaje de individuos, especialmente mujeres, cuando el microorganismo alcanza el torrente circulatorio. Se caracteriza por la presencia de exantema y artritis.
• Esterilidad- Infertilidad- Embarazo ectópico: como consecuencia de salpingitis o de una EPI.
• Estrechez uretral: como consecuencia de la cicatriz residual de una uretritis masculina.
• Conjuntivitis neonatal: consecuencia del paso del recién nacido por el canal de parto.

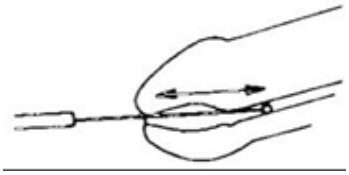


Diagnóstico microbiológico
Obtención, conservación y transporte de la muestra
El tipo y la obtención de la muestra dependerán de la

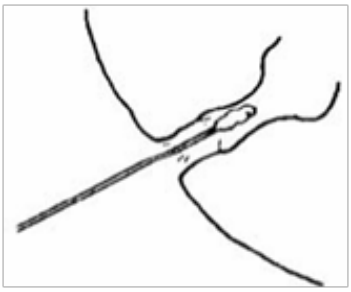
localización de la infección, sexo y hábitos sexuales del paciente.
Neisseria gonorrhoeae es una bacteria muy lábil a bajas temperatura, a los agentes químicos y a la desecación. Por esta razón las muestras obtenidas deben ser procesadas rápidamente o colocadas en medio de transporte adecuado (Medio de Stuart) y conservarse a temperatura ambiente.



Toma de muestra de endocérvix



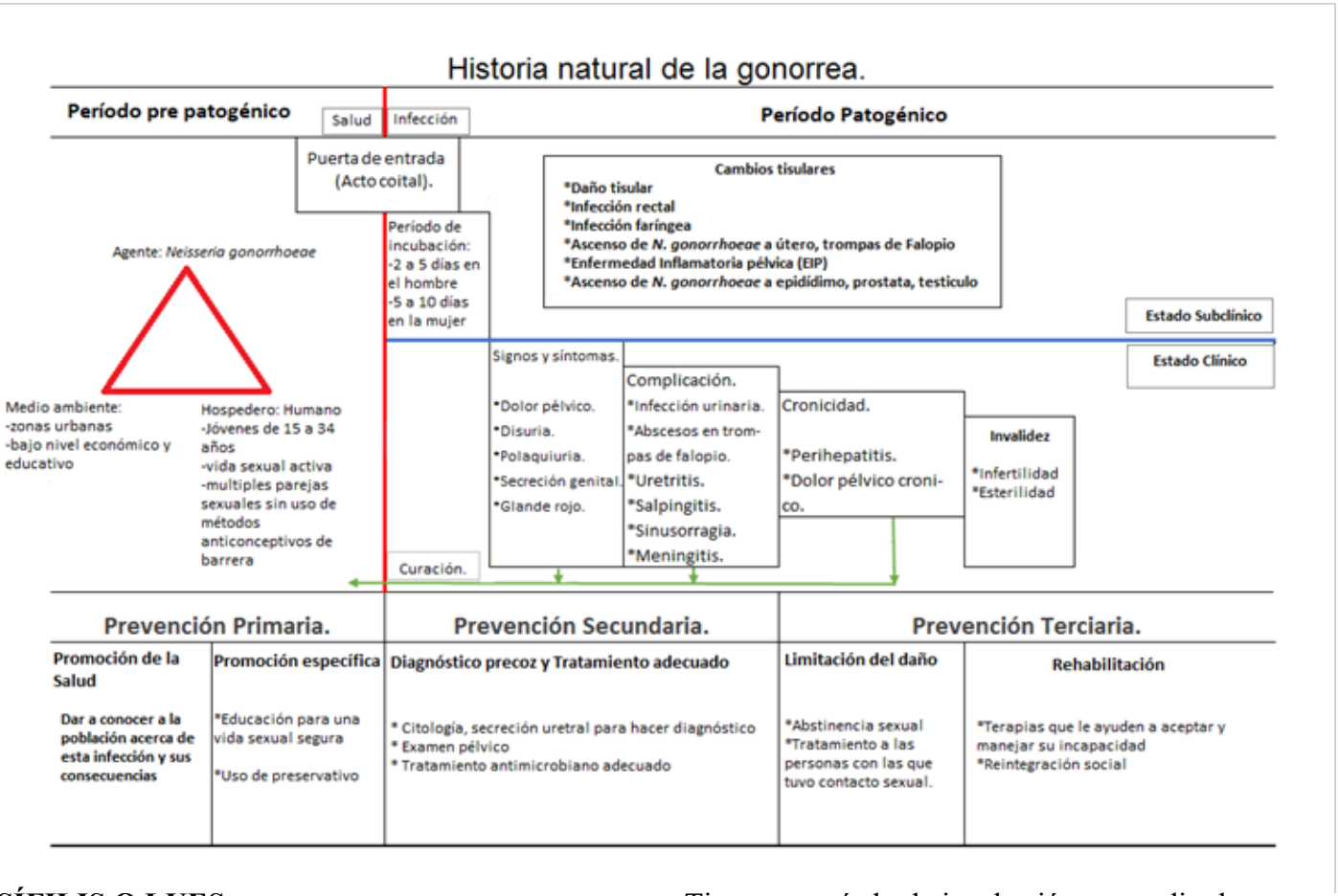
Toma de muestra de uretra anterior



Toma de muestra canal anal

Procesamiento
1) Examen Directo:
Coloración de Gram: en el hombre, la presencia de diplococos Gram negativos intracelulares y extracelulares (se refiere a los leucocitos PMN) en un exudado uretral, es diagnóstico de gonorrea. En este caso lo que certifica el diagnóstico es la observación de los microorganismos intracelulares (dentro de los leucocitos PMN). De todas formas, es importante realizar el cultivo, identificación y pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos aunque ya se tenga el diagnóstico de gonorrea; ya que en la actualidad existe un gran porcentaje de N. gonorrhoeae con resistencia a los antimicrobianos usados para el tratamiento de esta bacteria.
En cérvix, recto y faringe no se realiza la coloración de Gram. Esto es así ya que al ser zonas normalmente colonizadas con Neisserias saprófitas; el examen directo no nos va a ser de mucha ayuda para llegar al diagnóstico de Gonorrea.

2) Aislamiento:
El cultivo de las muestras se realiza en medios selectivos como el Medio de Thayer Martín, que contiene antimicrobianos: vancomicina, colistina y nistatina. La incubación se realiza con un 5 a 10% de dióxido de carbono por 24-48 horas a 35-37°C.
3) Identificación:
Se realiza a partir de las colonias que han desarrollado en el medio de cultivo.
a) Identificación bioquímica: La identificación de género se realiza mediante las pruebas de superoxol y de la oxidasa, siendo positivas para Neisseria spp.
La identificación de especie se realiza por la utilización de carbohidratos: N. gonorrhoeae es glucosa positiva, maltosa y lactosa negativas.
b) Identificación inmunológica: se utilizan pruebas tales como la Coaglutinación, Inmunofluorescencia, obteniéndose los serotipos que tienen valor epidemiológico.
c) Auxotipificación: Las cepas de N. gonorrhoeae pueden subdividirse en auxotipos en base a sus requerimientos nutricionales (aminoácidos: arginina, hipoxantina, uracilo). Por ejemplo las denominadas cepas AHU son las que requieren arginina, hipoxantina y uracilo; están principalmente involucradas en infecciones diseminadas.
4) Pruebas de Sensibilidad:
Estos microorganismos en el transcurso de los años han desarrollado resistencia a diferentes antimicrobianos utilizados para su tratamiento como tetraciclinas, penicilina y ciprofloxacina. Esto tiene importancia no sólo desde el punto de vista de la terapéutica, sino como vigilancia epidemiológica para la detección temprana de los cambios en el patrón de sensibilidad. Las pruebas de rutina que se realizan son:
- Antibiograma por Difusión
- Prueba de detección de betalactamasas.



SÍFILIS O LUES

Es una enfermedad infecto-contagiosa de distribución mundial. Su agente etiológico es Treponema pallidum subespecie pallidum (espiroqueta delgada, ondulada y móvil) que no forma parte de la flora normal. Al igual que N. gonorrhoeae es sumamente lábil a los agentes físicos y químicos. No es cultivable en medios artificiales. Puede mantenerse viable en cultivos celulares (células epiteliales de conejo) y en animales de experimentación (testículo de conejo).

Es un patógeno exclusivamente humano. La transmisión se realiza por contacto sexual, vía parenteral (transfusiones, agujas compartidas) y por vía transplacentaria.

La sífilis puede ser diagnosticada por métodos directos (visualización del agente) y/o métodos indirectos (pruebas serológicas).

Esta enfermedad cursa con 3 períodos clínicos y un período silencioso: períodos primario, secundario, período de latencia y período terciario.

Los períodos primario y secundario son epidemiológicamente importantes porque permiten la diseminación de la enfermedad, ya que las lesiones son altamente contagiosas.

A) Sífilis primaria

Tiene un período de incubación promedio de tres semanas. La lesión típica es el chancro. Es una exulceración indurada (no llega a la dermis) que marca la puerta de entrada del Treponema pallidum en mucosas, semimucosas y piel. Generalmente es única e indolora. Se acompaña de adenopatía regional y desaparece a las 4 a 6 semanas.

Las localizaciones más frecuentes son: surco balanoprepucial, labios mayores y menores, cérvix, periné, orquilla vulvar, cavidad oral, canal anal.

B) Sífilis secundaria

Este período se caracteriza por la aparición de lesiones cutáneo-mucosas: máculas, pápulas, condilomas, placas mucosas y linfadenopatías generalizadas. Estas lesiones aparecen entre 3 y 6 semanas luego de la aparición del chancro. Son altamente contagiosas.

C) Sífilis latente

Luego del período secundario sobreviene una etapa asintomática denominada “período de latencia” cuya duración es variable.

Aquí, Treponema pallidum, persiste o se multiplica muy lentamente en diversos órganos. En este período el diagnóstico microbiológico se realiza únicamente por serología (FTA-Abs).

D) Sífilis terciaria

Actualmente este período es poco frecuente. Se caracteriza principalmente por la presencia de: gomas sifilíticos (piel y huesos), sífilis cardiovascular y neurosífilis.

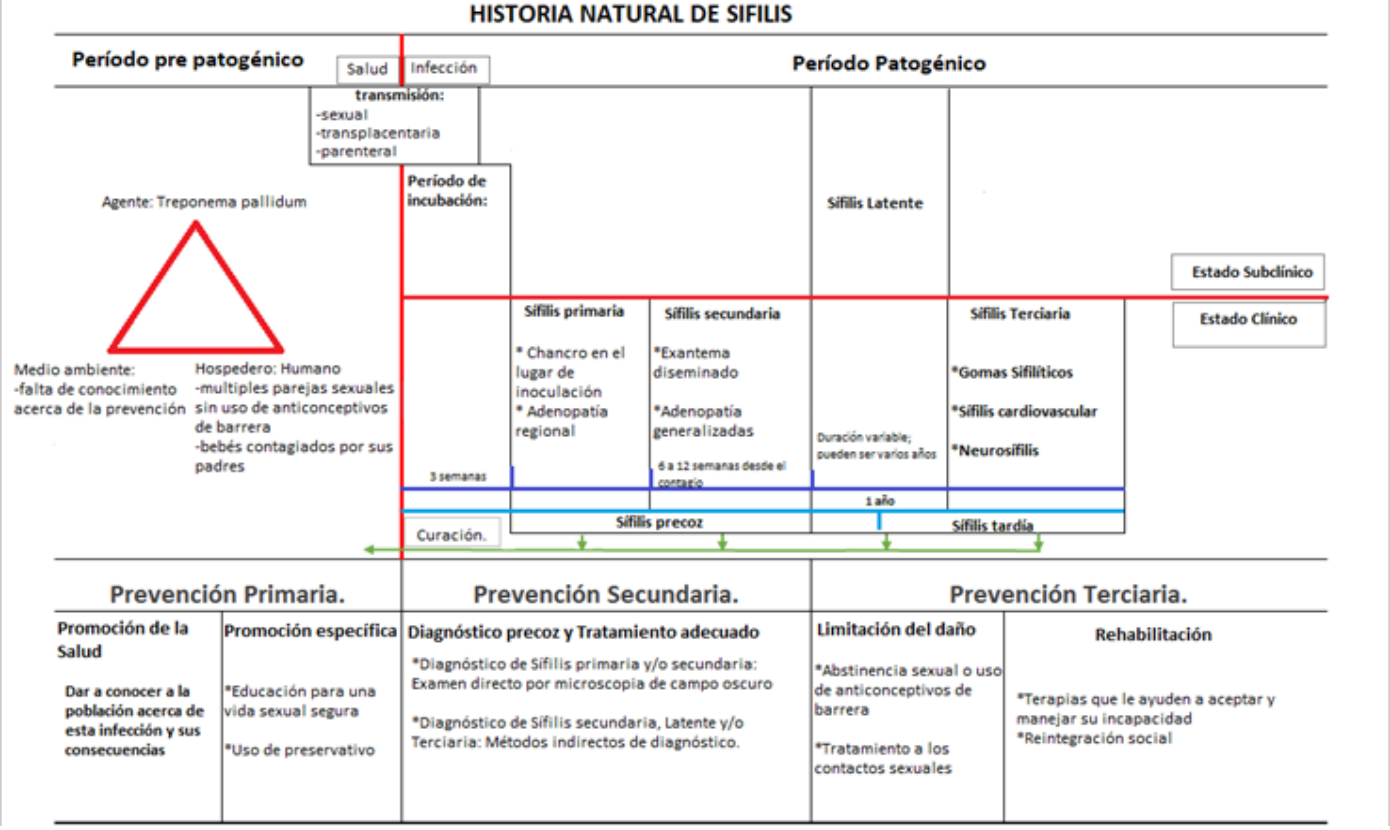
Diagnóstico microbiológico
1) Métodos directos
A) Obtención de la muestra clínica
a. Raspado del borde del chancro (sífilis primaria)
b. Raspado de sifílides y/o condilomas (sífilis secundaria)
B) Procesamiento
a. Examen directo: Visualización en fresco del agente por microscopía de campo oscuro o contraste de fases para observar la morfología y motilidad características de Treponema pallidum.
b. Cultivo: Esta bacteria no puede ser cultivada en medios de cultivos artificiales.
c. Inmunofluorescencia directa
d. PCR
2) Métodos indirectos
Serología: Las pruebas serológicas comienzan a positivizarse 1 a 3 semanas después de la aparición del chancro y se clasifican en inespecíficas (o no treponémicas) y específicas (o treponémicas)
Pruebas inespecíficas:
V.D.R.L. (Veneral, Disease, Research, Laboratory: laboratorio de investigación de enfermedades venéreas).
Es una prueba de floculación: detecta anticuerpos denominados reaginas que no son anticuerpos específicos contra T. pallidum, sino contra antígenos lipídicos liberados por las células del huésped dañadas por el microorganismo. El antígeno utilizado en la reacción es la cardiolipina. La cardiolipina, obtenida de corazón de buey, permite detectar anticuerpos totales antilipídicos, sintetizados por el paciente en respuesta al material lipoide liberado desde las células dañadas por la infección. Tiene un alto porcentaje de falsos positivos (reactivos) debido a otros procesos infecciosos: lepra, paludismo, colagenopatías, hepatitis, mononucleosis, varicela y en situaciones fisiológicas como el embarazo. Este resultado requiere confirmación con una prueba específica. Un resultado no reactivo en período precoz no descarta sífilis.

R.P.R. (Rapid Plasma Reagin)
Tiene el mismo fundamento que la VDRL pero utiliza antígenos con partículas de carbón; por lo que su lectura es macroscópica.

Pruebas específicas:
F.T.A.-abs (Fluorescent Treponemal Antibody - absortion) o Test de Inmunofluorescencia.
Es una técnica de inmunofluorescencia indirecta que detecta anticuerpos antitreponémicos. Los anticuerpos pueden corresponder a la fracción M o G de las inmunoglobulinas. Las IgM corresponden a la primoinfección y están presentes en el período primario, pero no en el secundario.
Es altamente específica porque el suero del paciente se absorbe primero con treponemas no patógenos para eliminar anticuerpos de reacción cruzada y utilizar antígenos de Treponema pallidum. Esta prueba se utiliza para confirmar el resultado inespecífico de una prueba positiva.

Utilidad de las pruebas serológicas:
Inespecíficas
- Examen selectivo de población: prueba catastral o de “screening” inicial (VDRL cualitativa/ RPR)
- Control de tratamiento (VDRL cuantitativa).
- Neurosífilis
- Sífilis congénita
Específicas
- Confirmación de prueba inespecífica reactiva
- Diagnóstico de sífilis precoz.
- Diagnóstico de latencia.

	Pacientes con úlcera o lesión			Tamizaje en pacientes asintomáticos				
	Campo Oscuro	Detección de Ag (DF-TP)	DNA (PCR)	Pruebas no treponémicas		Pruebas treponémicas		
				RPR	VDRL	Test Rápido	EIA	FTA-Abs
Sensibilidad	74-86 %	73-100%	91%	86-100%	78-100%	84-98%	82-100%	70-100%
Especificidad	85-97%	89-100%	99 %	93-98%	98%	94-98%	97-100%	94-100%
Grado de complejidad de la técnica	Fácil	Moderado	Complejo	Fácil	Fácil	Fácil	Moderado	Complejo



Infecciones por Chlamydia trachomatis

La familia Chlamydiaceae comprende el género Chlamydia. Son procariotas que se diferencian de otras bacterias por su tamaño pequeño, por la estructura de la pared (carecen de una capa de las capas de peptidoglicano) y por su parasitismo intracelular obligado (dependen de la célula huésped para su multiplicación).

En la actualidad se reconocen 3 especies de clamidias que afectan al hombre: - Chlamydia trachomatis, Chlamydia psittaci y Chlamydia pneumoniae.

C. psittaci y C. pneumoniae infectan el tracto respiratorio.

C. trachomatis produce infecciones oculares, genitales y respiratorias.

Especie	Biovar	Genotipos	Patología o Síndrome
Chlamydia trachomatis	Ocular	A, B, Ba, C	Conjuntivitis en recién nacidos y adultos; tracoma y ceguera.
	Genital	D, Da, E, F, G, Ga, H, I, Ia, J, Ja y K	Neumonía y conjuntivitis neonatal. Uretritis y epididimitis en hombres. Síndrome uretral, cervicitis, endometritis, salpingitis, infertilidad, Perihepatitis (Sind. Fitz-Hugh-Curtis)
	LGV	L1, L2, L2a, L2b y L3	Linfogranuloma Venéreo
Chlamydia psittacci		A, B, C, D, E, F, WC Y M56	Psitacosis Neumonía
Chlamydia pneumoniae		A, B, C, D	Neumonía

Las infecciones genitales primarias y las complicaciones de C. trachomatis son semejantes a las de Neisseria gonorrhoeae.

	Cuadro Clínico	Complicaciones
Hombre	Uretritis Epididimitis Proctitis	Diseminación Sindrome de Reiter Infertilidad LGV
	Conjuntivitis de inclusión	
Mujer	Cervicitis Bartholinitis Uretritis Salpingitis	Embarazos ectópico Abortos Partos prematuros Infertilidad Esterilidad Perihepatitis Diseminación LGV
	Conjuntivitis de inclusión	
Neonato	Neumonía atípica Conjuntivitis	

Uretritis post-gonocócica: el hombre se infecta simultáneamente con Neisseria gonorrhoeae y Chlamydia trachomatis. La primera tiene un período de incubación más corto, por lo cual la sintomatología de la gonorrea aparece primero. Además el tratamiento específico para Neisseria gonorrhoeae produce formas persistentes de C. trachomatis. Estos factores explican la reaparición de los síntomas (C. trachomatis) luego que N. gonorrhoeae ha sido eliminada.

Diagnóstico microbiológico

A) Toma de muestras

Muestras clínicas:

- Endocérvix (mujer)
- Uretra (hombre)
- Primer chorro de orina (mujer y hombre)

• Hisopado conjuntival (mujer, hombre, recién nacido)
Como son microorganismos intracelulares es importante obtener células infectadas para su estudio, por lo que cuando se obtiene con hisopo debe ser por raspado vigoroso del sitio de la infección.
B) Examen directo:
Debido a las características especiales de C. trachomatis no es posible visualizarla con la coloración de Gram.
En determinadas localizaciones como en la conjuntivitis neonatal puede utilizarse la Coloración de Giemsa o Tinción con iodo.
C) Cultivo:
Debido que las clamidias son parásitos intracelulares obligados el aislamiento se realiza en cultivos celulares (líneas celulares Mc Coy, HeLa).
Esta es la técnica adecuada para realizar control post tratamiento; ya que se aisla la bacteria viable.
D) Identificación:
Se realiza a partir del cultivo celular utilizando Inmunofluorescencia (IF).
E) Detección de antígenos:
C. trachomatis se puede detectar directamente en las muestras clínicas utilizando IF directa o ELISA (Antígeno). Es importante recalcar que estos métodos diagnóstico tienen baja sensibilidad por lo que no son de primera elección.
F) Amplificación de ácidos nucleicos:
La amplificación de ácidos nucleicos se realiza por PCR. Esta técnica se considera la más apropiada para realizar el diagnóstico de esta bacteria ya que es extremadamente sensible y específica y no necesita estrictos controles de toma de muestra, conservación y envío como el aislamiento por cultivo celular.
G) Serología
Es importante destacar que este tipo de diagnóstico es de utilidad solo en infecciones sistémicas producidas por Chlamydia trachomatis, como son LGV y las infecciones neonatales; en el resto de las infecciones producidas por esta bacteria no se produce un gran movimiento del sistema inmune ya que son infecciones muy localizadas, y, por lo tanto, no vamos a poder detectar IgM ni IgG.

Infecciones Virales de Transmisión Sexual
El tracto genital es la vía de acceso de diferentes agentes virales, algunos de los cuales causan lesiones en la zona anogenital y periné (Virus Herpes Simplex, Virus Papiloma Humano, Virus del Moluscum Contagiosum), mientras otros ingresan por esta vía para infectar células blanco alejadas de la zona anogenital (Retrovirus, Virus Hepatitis B, C, y D y Citomegalovirus). Otros agentes virales pueden transmitirse según el tipo de actividades sexuales (Virus Hepatitis A y Virus Hepatitis E).
Las características generales de los virus que pueden transmitirse por vía sexual son:
• En general pueden ingresar al organismo por diferentes vías: sexual, parenteral, congénita o perinatal (Virus Hepatitis B, C, D; HPV, Retrovirus).
• La mayoría de las infecciones que originan estos agentes virales son persistentes.
• Muchos de ellos son virus oncógenos (Virus Hepatitis B y C, Retrovirus, VPH).

Infección por VIH
El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) pertenece a la Flia Retroviridae. Los virus pertenecientes a esta familia tienen dos cadenas de ARN monocatenario de polaridad positiva, y se replican mediante un ADN intermediario sintetizado a partir del ARN a través de una enzima denominada Transcriptasa inversa.
Las vías de transmisión del VIH son:
• Sanguínea
• Sexual
• Vertical:
o Transplacentaria
o Perinatal (canal del parto)
o Lactancia
El VIH produce en el hospedero una infección de tipo persistente lenta en la cual podemos detectar 3 estadios:
1) Primoinfección: Este estadio tiene una duración de 4 a 8 semanas y se caracteriza por presentar una sintomatología tipo mononucleosis infecciosa
2) Período asintomático: El mismo puede tener una duración de meses o años. Clínicamente el paciente está asintomático y va teniendo progresivamente mayores cargas virales hasta llegar al tercer estadio.
3) SIDA: Representa la etapa más avanzada de la infección por el VIH. Se define por la aparición de alguna de más de veinte infecciones oportunistas o cánceres vinculados con el VIH y un recuento de CD4+ menor a 200/µl.

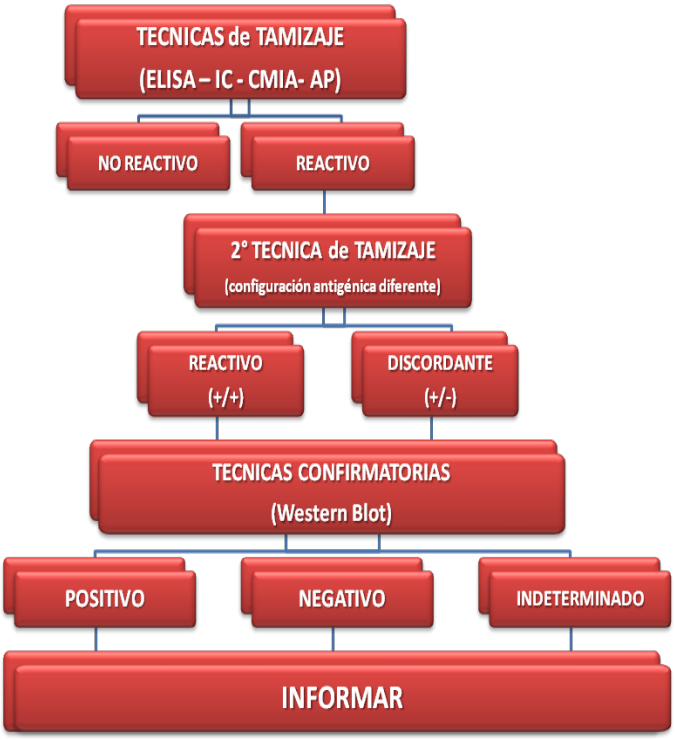
Epidemiología
Según cálculos de la OMS y el ONUSIDA, a finales

de 2016 había en el mundo unos 36,7 millones de personas infectadas por el VIH. Ese mismo año, contrajeron la infección unos 1,8 millones de personas, y 1 millón murieron por causas relacionadas con el VIH. En 2017, alrededor de 5.500 personas contrajeron VIH en la Argentina, 6.500 fueron diagnosticadas con el virus (el 35% de ellas en etapas avanzadas de la infección), la tasa de transmisión perinatal fue del 5% y 1.500 personas murieron por causas relacionadas con el sida.

Diagnóstico etiológico

El diagnóstico de virológico se realiza habitualmente mediante el uso de técnicas serológicas de alta sensibilidad, denominadas de tamizaje (ELISA, inmunoensayo, inmonocromatografía, aglutinación de partículas), en donde detectamos antígenos y anticuerpos específicos en suero o plasma. Posteriormente, los resultados positivos deben ser confirmados con técnicas serológicas de alta especificidad (IFI, Western blot, PCR).

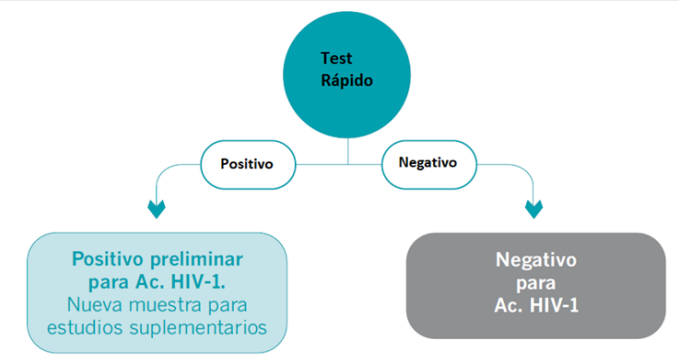
Algoritmo diagnóstico



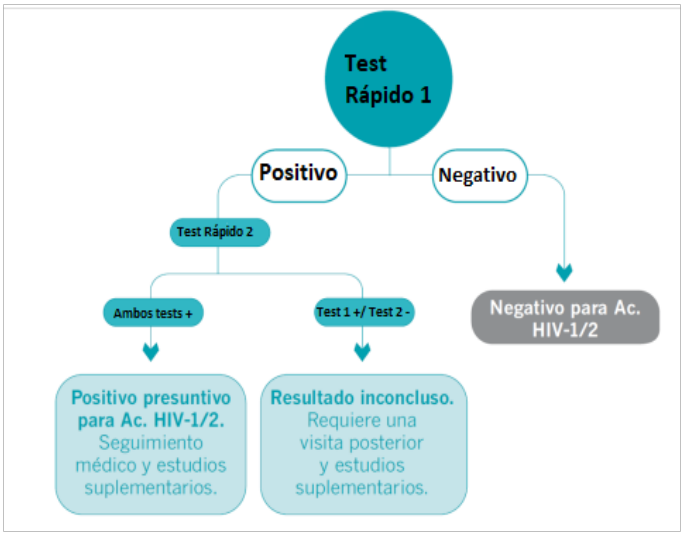
Nuevos algoritmos diagnósticos

Debido al avance tecnológico de los diferentes ensayos para el tamizaje y diagnóstico de VIH y la necesidad de ampliar el acceso al diagnóstico de toda la población, el Ministerio de Salud propone nuevos algoritmos para ser implementados en diferentes escenarios: centros de salud, centros de testeo voluntarios y laboratorios clínicos.

Centros de Salud o Centros de Testeo voluntarios utilizando un único test rápido

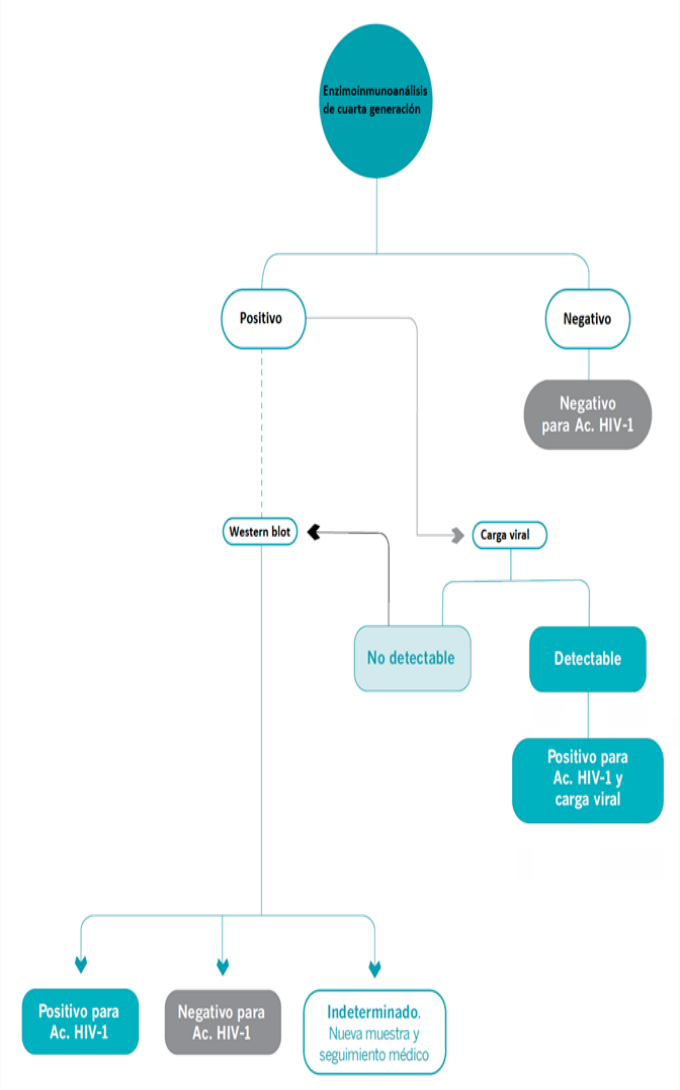


Algoritmo utilizando dos test rápidos combinados



El test rápido 1 debe ser de igual o mayor sensibilidad que el Test rápido 2. El test rápido 2 debe ser distinto al Test rápido 1.

Algoritmo para Laboratorios Clínicos: Inmunoensayo con ensayo suplementario molecular



Virus Papiloma Humano (VPH)

En 1970 cuando se inicia la era de la biología molecular se logra empezar a estudiar al VPH y se lo relaciona con displasias y cáncer cervical. En 1995 la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) concluyen, más allá de toda duda razonable, que el VPH es la causa necesaria no suficiente para el cáncer cervical.

El VPH tiene un amplio espectro de huéspedes vertebrados (primates, cánidos, osos, felinos, cetáceos, equinos, bovinos, roedores, aves y reptiles). La mayoría de los virus papiloma son específicos de especie, o bien restringidos a animales relacionados. Si las diferentes especies son infectadas por tipos específicos de virus, es posible inferir que el espectro de virus papiloma excede 105–106 tipos. Todos los virus papilomas forman la familia Papillomaviridae. La taxonomía de los VPH no está basada en el análisis serológico de sus determinantes antigénicos sino en la homología de sus ácidos nucleicos; por lo tanto se clasifican en genotipos. En los humanos, se han identificado más de 200 tipos distintos de VPH.

Cerca de 40 de los genotipos descriptos son los que infectan el tracto anogenital; los mismos están clasificados en VPH de alto riesgo (VPH-AR) y de bajo riesgo (VPH-BR) de acuerdo a su asociación al cáncer de cuello de útero.

Epidemiología

Cada año se detectan en el mundo 300 millones de casos nuevos de mujeres infectadas con VPH, 30 millones con lesiones cervicales de bajo grado, 10 millones con lesiones cervicales de alto grado y 500.000 nuevos canceres invasores de cérvix, de los cuales cerca de la mitad mueren (80% de ellos en países en desarrollo). Las infecciones por VPH son extremadamente comunes en mujeres sexualmente activas; entre el 50 y 80% de este grupo se infectará en algún momento durante su vida.

El virus puede transmitirse por vía horizontal (sexual, oral, fomites) o vertical (en el momento del parto), pudiendo producir infecciones persistentes o “transitorias”. Estas últimas ocurren en la gran mayoría de los casos y revierten espontáneamente entre los 6 y los 12 meses. La duración media de la infección por VPH de alto riesgo es de un año, los de bajo riesgo tienen una duración menor.

Diagnóstico

El VPH es un virus no cultivable; tampoco son de utilidad los métodos indirectos ya que la infección es muy localizada y no hay una respuesta inmune lo suficientemente importante para ser detectada.

Es por esto que el diagnóstico definitivo de la infección por VPH se va a realizar por métodos directos (Biología molecular).

Patologías asociadas al VPH

Localización	Lesiones	Tipos virales
Piel	Verrugas	1, 2, 3, 4, 7, 10, 26, 27, 28, 29, 41, 46, 48, 60, 63, 65
	Epidermodisplasia verruciforme	3, 5, 8, 9, 12, 14 , 15,17, 19-25, 36-38, 46-50, 75, 76, 80, 92, 93, 96
	Carcinoma	5, 8
Tracto anogenital	Cancer escamoso	5, 8, 14, 17, 20, 47
	Condiloma acuminado	6, 11, 13, 32, 34, 40, 42-44, 53-, 55, 57, 70
	Lesiones de bajo grado	6, 11, 42, 44, 54, 55, 30, 31, 33, 35, 39, 40, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 69, 70-74
	Lesiones de alto grado	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 66, 69
	Carcinoma invasor	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58

Técnica	Muestra	Ventajas	Desventajas
Microscopia electrónica	Macerado de tejido	Rápida	Poco accesible. Detecta virus completo, requiere alto número de viriones.
Citología	Extendidos celulares	Rápida	Detecta sólo infección productiva.
Histología	Cortes de biopsia	Accesible	Detecta sólo infección productiva.
Inmunohistoquímica	Extendidos celulares, cortes histológicos	Accesible	No tipifica, detecta antígeno común de género; indica infección productiva.
Detección de ácidos nucleicos sin amplificación			
Hibridación por Southern blot	Células o tejidos frescos	Sensible y específica; detecta nuevos tipos virales y subtipos. Estado físico de DNA	Poco accesible, larga y laboriosa; tamaño de muestra limitante.
Hibridación “in situ”	Cortes histológicos, extendidos citológicos	Rápida, accesible; correlaciona los tipos virales con la histología; conserva la arquitectura tisular; permite estudios retrospectivos.	No distingue subtipos ni nuevos tipos virales. Exige hibridar una sonda por cada tipo a ensayar. Baja sensibilidad para lesiones de alto grado.
Captura de Híbridos	Hisopado cérvico-vaginal	Rápida, sensible, reproducible	Sólo diferencia tipos de bajo o alto riego. Requiere luminómetro.
Detección de ácidos nucleicos con amplificación			
PCR	Células o tejidos, frescos o fijados. Biopsia	Permite identificar ~ 30 tipos virales en un solo ensayo. Sensible y específica. Producto apto para secuenciamiento.	Requiere templado de buena calidad (amplicón de 450pb). En material fijado suele dar falsos negativos. Difícil interpretación de infecciones múltiples.

Prevención

Dos vacunas polivalentes contra VPH están disponibles en nuestro medio: la vacuna bivalente (Cervarix®, GlaxoSmithKline) y la vacuna tetravalente (Gardasil®, Sanofi Pasteur MSD). Ambas vacunas son seguras, bien toleradas y protegen con una eficacia del 100% frente a la infección persistente por los VPH 16 y 18, en el caso de la tetravalente, el grado de eficacia es igualmente elevado en la protección frente a las verrugas genitales producidas por VPH 6 y 11.

Los resultados de seguridad de los ensayos clínicos de la vacuna bivalente y de la tetravalente respaldan que estas vacunas son generalmente bien toleradas y tienen un adecuado perfil de seguridad.

Los efectos adversos locales más comunes relacionados con la vacuna son: dolor transitorio de intensidad leve a moderada, eritema e inflamación en el lugar de inyección. Los síntomas sistémicos más comunes son fiebre, fatiga, cefalea y mialgias. Los porcentajes de mujeres con eventos adversos graves, patologías clínicamente relevantes, nuevas enfermedades crónicas y nuevas enfermedades autoinmunes son similares en las vacunadas y en no vacunadas.

Bibliografia

• Virología. Un Enfoque integral de las infecciones virales humanas. Editorial Brujas. 2018.

• Respuesta al VIH, Sida e Infecciones de transmisión sexual. Plan estratégico Nacional 2018-2021. Dirección de Sida, ETS, Hepatitis y TBC. Ministerio de Salud y Desarrollo Social de la Nación. Argentina. 2018.

• Documento de consenso sobre diagnóstico y tratamiento de las infecciones de transmisión sexual en adultos, niños y adolescentes. Seimc. 2017.

Capítulo 18
Infecciones congénitas y perinatales

Introducción
Son numerosas las infecciones que pueden ocurrir durante el embarazo, transmitirse al feto o recién nacido (RN) constituyendo una causa importante de morbi -mortalidad y de secuelas en la población pediátrica.
La sigla TORCH, empleada en los años 70 (Toxoplasma, Otros, Rubéola, Citomegalovirus, Herpes) se utilizó para agrupar a aquellos agentes que producían infección intrauterina. En aquella década el término "Otros" correspondía a infecciones como varicela y sífilis, en la actualidad pueden englobar también a Parvovirus B19, Chagas, Streptococcus beta hemolítico del grupo B, Listeria monocytogenes, Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Papilomavirus, malaria, tuberculosis, Virus de las Hepatitis B y C, y VIH.

Particularidades
• La transmisión puede ocurrir antes, durante o inmediatamente posterior al parto.

• Las vías de infección pueden ser: transplacentaria, por vía ascendente atravesando membranas integras, o no, o por contacto directo con secreciones contaminadas con el patógeno durante el parto.

• La viremia, bacteriemia o parasitemia que se producen en la mujer embarazada pueden ocurrir durante una primoinfección, período que suele ser más infectiva para el feto, o durante una infección crónica con diversas complicaciones.

• La enfermedad en la madre puede pasar inadvertida o ser sintomática.

• El diagnóstico varía según el agente y puede ser indirecto: serológico o directo: cultivos bacterianos, cultivos celulares o por técnicas de biología molecular.

• El manejo de los niños infectados requiere la intervención oportuna de equipos médicos especializados y de laboratorio con experiencia en el diagnóstico de estas infecciones, pudiendo ser la prevención mediante el diagnóstico materno antes o durante el embarazo la intervención más eficaz.
En general cuando la infección ocurre antes de las 20 semanas, es más grave y ocasiona malformaciones múltiples o pérdidas del embarazo. Si tiene lugar en épocas posteriores, durante el período fetal, puede ser causa de prematuridad, bajo peso, alteraciones del sistema nervioso central, y si ocurre poco antes del parto puede presentarse en forma de sepsis, neumonías, meningitis, ictericia, hepatoesplenomegalia, y suelen aparecer anemia y trombopenia. Finalmente, algunas de ellas pueden ser asintomáticas en el período neonatal y producir secuelas sobre todo neurosensoriales en épocas posteriores de la vida.

Fisiopatogenia
Los agentes infecciosos pueden ser transmitidos de la madre al feto y al RN por los siguientes mecanismos:

• Vía Intrauterina: llegan al útero por vía trasplacentaria o por vía ascendente desde la vagina, especialmente cuando hay rotura prematura de membranas. Cuando la infección ocurre intraútero el resultado puede ser la muerte del feto, la presencia de distintos estigmas y malformaciones o secuelas que se manifiestan en el desarrollo posterior del niño. Las infecciones adquiridas de esta manera se denominan infecciones congénitas. Su etiología puede ser: bacteriana (Treponema pallidum, Listeria monocytogenes, Streptococcus agalactiae), viral (Virus Rubéola, Citomegalovirus, Virus Varicela-Zoster, Parvovirus B19, Hepatitis B, VIH, HTLV), o parasitaria (Toxoplasma gondii, Trypanosoma cruzi).

• Durante el parto y el período inmediato después del nacimiento (periparto): en el canal del parto existen agentes infecciosos que se transmiten al RN durante el pasaje a través del canal de parto; además, en el período inmediato después del nacimiento, hay determinados microorganismos presentes en la sangre materna que pueden ser transmitidos al RN por contacto con la misma. Asi también puede ocurrir el pasaje durante la lactancia. Se las denomina infecciones perinatales o connatales (adquiridas por transmisión materna y que se presentan precozmente en los primeros días de vida). Su etiología puede ser: bacteriana (Streptococcus agalactiae, Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Ureaplasma ueralyticum), viral (Virus

Herpes Simplex, VIH, Virus de la Hepatitis B, Virus Papiloma Humano).

• Nosocomial: por adquisición intrahospitalaria de microorganismos provenientes de otros niños o del personal de la unidad de cuidados de RN. Los agentes etiológicos más frecuentes varían según la institución hospitalaria.

Infecciones bacterianas

Sífilis congénita

La sífilis es una infección sistémica debida a la espiroqueta Treponema pallidum que tiene dos vías de transmisión: sexual y transplacentaria. En los últimos años se ha asistido a un incremento importante de los casos de sífilis y es fundamental el cribado gestacional que permita su detección prenatal para evitar un incremento de sífilis congénita.

La infección congénita del feto puede ocurrir en cualquier estadio de la enfermedad si la madre no ha recibido tratamiento o si éste no fue adecuado.

El agente etiológico, Treponema pallidum, se transmite por vía trasplacentaria en cualquier momento del embarazo o durante el parto por contacto con lesiones. La infección congénita puede producir: aborto tardío, parto con feto muerto, muerte neonatal, enfermedad neonatal o infección latente.

Igual que en el adulto, la sífilis en el recién nacido se divide en temprana y tardía. Aquellos síntomas que aparecen en los dos primeros años de vida corresponden al período temprano y los que aparecen después de los dos años, generalmente cerca de la pubertad, corresponden a la sífilis congénita tardía.

El compromiso sistémico se expresa por hepato-esplenomegalia, hepatitis neonatal, síndrome nefrítico o nefrótico, neumonitis, anemia, hidrops fetal. En cuanto al compromiso del SNC, estos neonatos pueden presentar meningoencefalitis con aumento de células o proteínas en el LCR. La sífilis neonatal es una enfermedad de declaración obligatoria.

Los RN afectados pueden presentar: lesiones mucocutáneas de diversa gravedad, lesiones óseas.

La infección cercana al parto genera un neonato asintomático al momento de nacer pero que luego presentará síntomas en los meses posteriores o permanecerá asintomático y sólo será detectado por estudios serológicos en los años siguientes.

Las manifestaciones tardías clásicas se producen en los niños no tratados con afectación del SNC, hueso, dientes, ojos y piel. Son de muy rara observación en la actualidad.

El diagnóstico en el neonato se realiza em base a: 1- historia clínica materna, 2- examen físico del mismo y 3- laboratorio.

Diagnóstico microbiológico

Para lograr detectar la sífilis congénita lo más confiable es detectarla en la madre. Por lo cual se debe solicitar VDRL a toda embarazada como mínimo en el primer trimestre del embarazo y al final del tercer trimestre. Un título de VDRL positivo (Prueba indirecta no treponémica) se confirma con una prueba treponémica (FTA- abs).

En el RN se puede detectar IgG o IgM. La detección de IgM antitreponémica específica (por FTA o ELISA), hace diagnóstico ya que es un anticuerpo que no atraviesa placenta, pero es una técnica compleja y no se las utiliza de rutina.

La detección IgG, inmunoglobulina que atraviesa la placenta, se realiza mediante pruebas serológicas treponémicas y no treponémicas. Son las más utilizadas, pero requieren una correcta interpretación. En el recién nacido se debería tomar muestra de sangre periférica, no del cordón umbilical (por falsos positivos) y sangre de la madre en forma pareada. Las pruebas no treponémicas (VDRL) tendrán valor si el título en el RN es 4 o más veces superior al materno, aunque a veces los títulos del recién nacido infectado son iguales a los maternos.

En el LCR se utiliza la VDRL. La positividad de la VDRL en LCR indica afectación neurológica.

Las técnicas moleculares (RCP) son útiles, especialmente para el estudio del compromiso del SNC en neonatos. Por el momento no siempre están disponible por requerir equipamiento especializado.

Infección por estreptococo betahemolítico grupo B (EGB) o Streptococcus agalactiae

Streptococcus agalactiae (EGB) es un coco Gram positivo beta hemolítico del grupo B, que se encuentra formando parte de la microbiota transitoria de la vagina y del recto de la mujer gestante. Puede infectar al feto, por transmisión vertical, ascendiendo y atravesando las membranas ovulares rotas o aún intactas, o por contacto directo al atravesar el canal de parto, transmisión más frecuente. En el período posterior al nacimiento puede ocurrir transmisión horizontal interhumana, aunque es menos probable.

Es uno de los microorganismos bacterianos que producen con mayor frecuencia infección bacteriana perinatal. En la embarazada puede ser causa de infección urinaria, amnionitis, corioamnionitis y endometritis. En el RN puede ser causante de infecciones tempranas (dentro de los primeros 6 días de vida) como neumonías, meningitis o sepsis; o infecciones tardías (después de los 6 días hasta 3 meses).
La colonización durante el embarazo generalmente es intermitente y oscila entre el 5% y 35%. Entre un 40-70% de los recién nacidos de madres portadoras se colonizan, y un 1 a 2% desarrollan infecciones invasivas.
La incidencia de enfermedad neonatal en Estados Unidos es de aproximadamente 1 a 4 por 1.000 recién nacidos vivos mientras que datos de nuestro país informan una incidencia de 0,6 a 1 por 1.000 recién nacidos vivos.

Diagnóstico microbiológico
Debe realizarse el estudio de PORTACIÓN materna de EGB mediante hisopado de la vagina y recto a todas las embarazadas que se encuentren entre las semanas 35 y 37 de gestación. La detección de EGB se realiza mediante cultivo y luego identificación del agente. Si la madre es portadora de EGB, se le administra antibióticos como profilaxis al comenzar el trabajo de parto, penicilina o ampicilina intravenosa, en caso de alergia a betalactámicos como alternativa se utiliza clindamicina previa realizar antibiograma por difusión para ver si es sensible al este antibiótico. Esta profilaxis intraparto evita las infecciones neonatales de inicio temprano.
En caso de neonatos con sospecha de infección las muestras clínicas dependerán de la forma de presentación. Si es sepsis se tomará muestras de sangre para hemocultivo, si es meningitis LCR y si se presenta como neumonía se pueden tomar secreciones bronquiales, aunque en estos dos últimos casos siempre hay que tomar hemocultivos de rigor que acompañen a las otras muestras.

Infección por Listeria monocytogenes
Listeria monocytogenes es un bacilo Gram positivo aeróbico, móvil, que se encuentra ampliamente distribuido en el ambiente, especialmente en los alimentos (leche no pasteurizada, quesos blandos, salchichas, carne no cocida adecuadamente, embutidos y vegetales crudos).
La madre ingiere alimentos contaminados y se produce la colonización asintomática fecal y vaginal. Inicialmente puede infectarse la madre o permanecer asintomática. Posteriormente se infectará el feto o RN. La infección se transmite por vía trasplacentaria, vía ascendente o durante el parto.
Durante la gestación suele producirse un leve deterioro en la inmunidad celular, por lo que las embarazadas son más proclives a desarrollar bacteriemia por Listeria spp. con un riesgo 17 veces mayor que el resto de la población.
Además, la bacteria puede proliferar en zonas de la placenta donde no puede ser alcanzada por los mecanismos de defensa habituales. La embarazada puede hacer bacteriemia, la cual se manifiesta como enfermedad febril aguda o como un cuadro pseudogripal .
La infección neonatal puede resultar en feto muerto o muerte neonatal. También puede producir infección diseminada, cuadro conocido como granulomatosis infantiséptica, que se caracteriza por la presencia de microabscesos y granulomas generalizados en el feto. Es muy controvertida su participación como causa de aborto espontáneo.
En el neonato, las manifestaciones clínicas pueden ser similares a las producidas por EGB, es decir, cuadro clínico de comienzo temprano con neumonía y sepsis u otro de comienzo tardío, que suele presentarse con meningitis.

Diagnóstico microbiológico
En el RN se aísla mediante cultivo de la bacteria a partir de hemocultivos y/o LCR.
Es frecuente que se utilicen los hallazgos anatomopatológicos característicos en el tejido placentario: presencia de microabscesos y bacilos Gram positivos en los granulomas.

Infección por Chlamydia trachomatis
Chlamydia trachomatis infecta el canal del parto en la mujer produciendo una endocervicitis. Su presencia hace que el RN, al atravesarlo, pueda infectarse. Las manifestaciones clínicas más frecuentes son: conjuntivitis de inclusión y neumonía intersticial o neumonía atípica.
El diagnóstico de Chlamydia trachomatis se realiza mediante métodos directos: cultivos celulares, métodos moleculares o detección de antígenos específicos.

Infección por Neisseria gonorrhoeae (Ng)

La Ng también produce cervicitis en la mujer embarazada y de esta manera la transmite al RN al atravesar el canal de parto. La manifestación más frecuente de la infección neonatal por Neisseria gonorrhoeae es la conjuntivitis (ophthalmia neonatorum). Su diagnóstico se realiza hisopando las secreciones conjuntivales al RN y empleando cultivos selectivos como Thayer Martin. La instilación de antimicrobianos en las conjuntivas de los neonatos en el posparto inmediato ha resultado una estrategia muy eficaz para prevenir esta complicación.

Infecciones virales

Los virus productores de infecciones en el feto y el RN son múltiplesr pero rescatamos aquí los más frecuentes:

Infección por Virus Rubéola

La Rubéola es una infección viral exantemática típica de la infancia que rara vez se acompaña de complicaciones, excepto durante el embarazo. La infección en la mujer embarazada puede provocar la transmisión por vía transplacentaria, con riesgo elevado para el feto de desarrollar una enfermedad grave.

El riesgo de infección fetal y la gravedad de las secuelas están en relación directa con el momento de la gestación en el que se produce la infección. Cuanto más precoz es la infección durante el embarazo, resulta más frecuente y grave el daño fetal. Durante los dos primeros meses de gestación, hay un 65 - 85% de posibilidades de malformaciones congénitas múltiples, aborto espontáneo o ambos. Durante el tercer mes de vida fetal, la infección del embrión se asocia a una probabilidad del 30 - 35% de desarrollar una única malformación, tal como sordera o cardiopatía congénita, en tanto que, si la infección ocurre en el cuarto mes, el riesgo de malformación baja a un 10%. Si la infección se produce después de la semana vigésima de gestación, el daño puede reducirse a una sordera.

Toda mujer en edad fértil debería conocer su estado inmunitario frente a la rubéola, mediante control serológico, y vacunarse si es susceptible, o sea, si no tiene anticuerpos protectores. Si en la primera consulta de control obstétrico, surge el antecedente de que nunca la paciente fue testeada serológicamente contra la rubéola o desconoce si fue vacunada, se debe incluir el control dentro de los estudios habituales que se soliciten.

En la mayoría de los países de Sudamérica, entre los cuales se incluye el nuestro, la infección en el adulto ocurre tempranamente en la vida, con el pico máximo de incidencia antes de la pubertad.

Diagnóstico microbiológico

El diagnóstico de infección por Virus Rubéola se realiza por detección de seroconversión de IgG o detección de IgM específica. Los métodos más empleados son la Inhibición de la hemaglutinación (IHA) o ELISA. Actualmente métodos más sensibles reemplazaron en parte a la IHA: uno de los más utilizados en nuestro medio es el enzimoinmunoensayo.

Existen además métodos rápidos, como aglutinación de látex y hemaglutinación pasiva. El patrón de comparación se realiza con la prueba de IHA porque tiene mejor sensibilidad y especificidad.

Infección materna: ante la sospecha de infección aguda durante el embarazo debe solicitarse la investigación de IgM específica para Virus Rubéola. También puede demostrarse infección reciente por seroconversión de Ac IgG antirubeola.

Infección congénita: para el diagnóstico serológico de rubéola en el neonato deben medirse los anticuerpos frente a Virus Rubéola tanto en él como en la madre. La detección de IgM específica antirubéola en la sangre del RN hace diagnóstico de infección. También el monitoreo de anticuerpos IgG en el recién nacido a lo largo de los meses tras el nacimiento, es un elemento útil para descartar rubéola congénita. Varias determinaciones en el suero del niño pueden detectar si los anticuerpos contra rubéola son transferidos en forma pasiva de la madre al feto (en este caso el título de Ac baja), o si pertenecen al neonato (el título se incrementa). Dichas determinaciones se deben hacer a los 3, 6 y 12 meses de edad.

El virus puede aislarse de nasofaringe y, en menor proporción, de conjuntivas, líquido cefalorraquídeo u orina del recién nacido. La excreción del virus por orina continúa hasta el año.

Los nuevos métodos con técnicas de biología molecular para el diagnóstico prenatal son promisorios, pero por el momento no están disponibles.

Infección por Citomegalovirus (CMV)

El Citomegalovirus (CMV) pertenece a la familia Herpesviridae. Los virus de esta familia se caracterizan por permanecer en reservorios del organismo como infección latente, después de producida la infección primaria, y presentar reactivaciones en su mayoría asintomáticas a lo largo de la vida. La infección por CMV es de distribución universal y se adquiere desde los primeros años de la vida con una prevalencia en la edad adulta entre el 60 y el 80%.
Cuando se considera la infección congénita y perinatal hay que tener en cuenta la infección por CMV en la mujer embarazada, que ocurre generalmente con escasa sintomatología. Durante el embarazo, la infección primaria, la reactivación o la reinfección con diferentes tipos virales circulantes pueden causar una infección en el embrión o el feto de gravedad variable El mayor riesgo es en las embarazadas con serología negativa que desarrollan primoinfección en el curso del embarazo.
La transmisión vertical ocurre: por vía trasplacentaria (congénita), al nacimiento por inhalación de secreciones maternas al pasar por el canal de parto o posnatal a través de la lactancia o por el contacto con secreciones contaminadas (perinatal).
La infección por CMV es la causa más frecuente de infección viral congénita, presentándose aproximadamente en el 1% de los recién nacidos. La relación es directamente proporcional a la prevalencia de infección materna, teniendo en cuenta que la mujer tiene la posibilidad de presentar reactivación de CMV durante el embarazo.
El grupo que presenta mayor riesgo de desarrollar enfermedad sintomática es el que adquiere la infección transplacentaria como consecuencia de la primoinfección materna (40%).

Infección congénita asintomática: en general, el pronóstico es más favorable. Sin embargo, entre el 5 al 15% pueden desarrollar alteraciones como hipoacusia sensorio neural, alteraciones motoras, retraso mental, coriorretinitis y alteraciones dentales.

Infección congénita sintomática: aproximadamente el 5% de los recién nacidos con infección congénita tiene enfermedad generalizada. La infección se caracteriza por el compromiso de múltiples órganos, principalmente del sistema reticuloendotelial y el sistema nervioso central.

Infección perinatal: se presenta en el 25-50% de los niños en contacto con las secreciones maternas infectadas durante el parto y en aproximadamente el 40-60% de los que son amamantados más de un mes. La infección posnatal a partir de secreciones internas o por la lactancia no se asocia a enfermedad clínica.

Diagnóstico microbiológico
Cabe destacar que el diagnóstico debe realizarse dentro de las tres semanas de vida del RN. Si se realiza más allá de los 21 días de vida es difícil establecer el diagnóstico de infección congénita. El mejor método diagnóstico es el aislamiento del virus a partir del cultivo de orina o secreciones. La viruria es alta en la mayoría de los niños con infección congénita y puede ser fácilmente detectado en cultivo de fibroblastos. La muestra debe ser recolectada en forma estéril y debe ser enviada al laboratorio de referencia en forma refrigerada. En 1980 se desarrolló un método de aislamiento rápido llamado “shell vial”, que permitió el diagnóstico viral en 24-48 horas con muy buena sensibilidad y 100% de especificidad. El cultivo es un método costoso.
Las pruebas serológicas son útiles en un número limitado de situaciones por falsos resultados. La detección de anticuerpos puede realizarse por inmunofluorescencia, hemaglutinación indirecta, radioinmunoensayo, aglutinación de látex y enzimoinmunoensayo (ELISA). El diagnóstico de infección durante el embarazo, se basa en: la clínica (síndrome mononucleósico, fiebre baja, astenia), el análisis del riesgo epidemiológico (hijo menor de 6 años), el resultado de los exámenes complementarios (linfomonocitosis, aumento de las enzimas hepáticas) y los estudios serológicos (IgM, IgG y Test de avidez). En el neonato la detección de IgM dentro de las 2 primeras semanas sugiere infección congénita, especialmente utilizando técnicas de captura y descartando factor reumatoideo. Los niveles de anticuerpos IgG o totales en el cordón umbilical y los niveles maternos son similares en el momento del nacimiento. Por esta razón hay que seguir haciendo determinaciones. Si los anticuerpos IgG de sangre del RN descienden luego del parto significa que son de la madre y que el recién nacido no está infectado.
La RCP se emplea en muestras de sangre de RN, a diferencia del método de aislamiento viral. Este método fue simplificado por Barbi y col., en el año 2000, quienes aplicaron esta técnica en gotas de sangre seca (GSS) del talón de RN, recolectadas sobre papel de filtro (tarjeta de Guthrie), con muy buena sensibilidad

y especificidad.

Infección por Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH)

En nuestros días se aprecia una tendencia a la feminización de la epidemia de la infección por VIH y como consecuencia de este fenómeno, el aumento en la velocidad de crecimiento de los casos de transmisión vertical de la infección.

Se ha progresado mucho en el conocimiento sobre las vías de transmisión vertical del VIH y los modos de prevenirla. Por lo cual se han producido cambios en el manejo obstétrico e infectológico de la embarazado VIH positiva.

La infección materna por VIH puede transmitirse al recién nacido por vía intrauterina, durante el trabajo de parto y en el postparto a través de la leche materna. La carga viral materna durante el embarazo es, según los distintos análisis publicados, el factor determinante más importante que se ha correlacionado con el riesgo de infección perinatal; con cargas virales menores de 1.000 copias/ml el riesgo es del 0-5%. Actualmente, el objetivo es llegar al parto con carga viral indetectable. La categorización del estadio de infección materna para la administración del tratamiento antirretroviral adecuado y la implementación de distintas medidas destinadas a minimizar el contacto del feto y el recién nacido con sangre y otros fluidos corporales maternos, ha permitido disminuir la transmisión vertical a menos del 2%. Para lograrlo es necesario implementar programas de diagnóstico precoz para embarazadas, disponer de un laboratorio especializado, drogas antirretrovirales y un equipo de salud perinatal multidisciplinario entrenado para el manejo de estas pacientes.

El SIDA en niños representa hoy el 4,5% del total de casos en la Argentina y más del 90% de ellos se infecta en el período perinatal.

Todas las mujeres deben ser estudiadas para descartar infección por VIH en el curso de la gestación, de preferencia en el 1º trimestre del embarazo, con el fin de implementar la terapia antiviral después de la semana 14 si fuera necesario.

Las mujeres con pruebas iniciales negativas y alto riesgo epidemiológico deben ser reevaluadas en cada trimestre de la gestación.

Se le debe indicar a las parejas sexuales que se efectúen una prueba de VIH y que reciban el asesoramiento y tratamiento adecuado en el caso de estar infectados.

El claro beneficio demostrado recientemente por los tratamientos que combinan inhibidores de la transcriptasa reversa e inhibidores de las proteasas ha llevado a replantear el tratamiento de la mujer infectada durante la gestación.

El tratamiento antirretroviral durante la gestación debe procurar resultar eficaz para la mujer adulta infectada y prevenir la infección del recién nacido.

El embarazo no debe ser considerado un impedimento o una contraindicación para la utilización de un esquema antirretroviral óptimo, similar al utilizado en mujeres no embarazadas.

Diagnóstico microbiológico

Infección en la embarazada

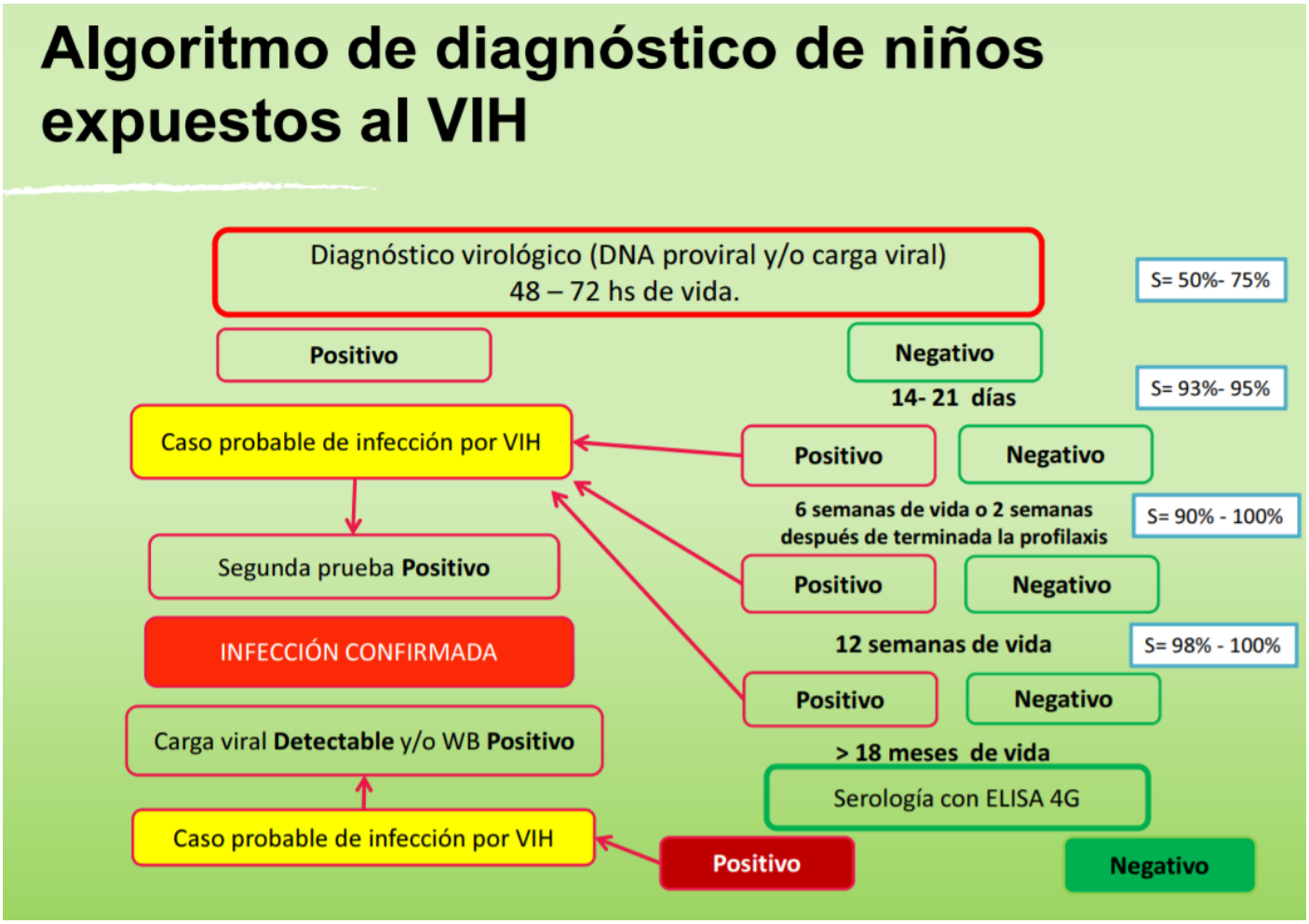
A toda mujer embarazada, previo asesoramiento, se le debe ofrecer el diagnóstico de VIH con consentimiento informado. Debe garantizarse el asesoramiento en un ámbito de privacidad. El diagnóstico se realiza por determinación de anticuerpos IgG para el VIH. (2 pruebas de ELISA y Western Blott). Después de la confirmación diagnóstica completar la evaluación materna realizando: conteo de CD4, cuantificación de carga viral y los estudios serológicos correspondientes para la exclusión de otras infecciones de transmisión perinatal

Infección en el recién nacido

El diagnóstico de infección en casos de recién nacidos se realiza a través de métodos directos mediante detección de ADN viral como la RCP o el cultivo del virus. Primera evaluación a las 48 – 72 horas de nacido. Confirmar con una segunda prueba de RCP a las 2 semanas de vida. Si los resultados son negativos pero se sospecha infección por la signo-sintomatología, repetirla para descartar los falsos negativos por hipogammaglobulinemia.

Infección por Virus de la Hepatitis B (VHB)

La Hepatitis B constituye un severo problema para la Salud Pública, siendo la principal causa de cirrosis y hepatopatía crónica. El virus de la Hepatitis B (VHB) tiene propiedades oncogénicas. Las personas que padecen en forma crónica esta infección tienen un 250 veces más riesgo de desarrollar cáncer hepático que la población general. En las áreas de alta prevalencia la mayoría de las infecciones se producen en el período perinatal o en la primera infancia. La transmisión perinatal origina un número importante de portadores crónicos y es la razón epidemiológica que perpetúa



Sociedad Argentina de Pediatría (SAP) Promoción y protección de la Salud. HCGD Área de prevención de la transmisión perinatal. Área de prevención de la transmisión perinatal. DSyETS.

la circulación del virus. Desde hace más de 20 años contamos con una inmunoprofilaxis efectiva y es ésta una herramienta muy importante para el control de la Hepatitis B.

La transmisión materno neonatal se produce, en el 90% de los casos, en el momento del parto, y en el 5 % intraútero; también puede haber transmisión horizontal en el posparto por contacto directo. El riesgo de infección perinatal depende en gran medida de la infectividad del suero materno. VHB causa un amplio espectro de posibilidades, desde la enfermedad asintomática, la enfermedad de curso subclínico con síntomas no específicos, la hepatitis clínica, la hepatitis fulminante y la enfermedad hepática de curso crónico con distintos grados de afectación hepática.

La condición de portador crónico (antígeno de superficie (HBs Ag+ 6 meses después de la infección) ocurre en el 90% de los casos de los niños infectados por transmisión perinatal.

Estos portadores crónicos tienen alto riesgo de padecer enfermedad hepática crónica con cirrosis, hepatitis crónica activa y hepatocarcinoma en edades tardías.

En Argentina alrededor del 1% de la población es portadora crónica (HBsAg+).

Diagnóstico Microbiológico

La serología para hepatitis B (HBs Ag) debe ser solicitada en la primera consulta obstétrica, junto a la rutina de laboratorio y a la serología para HIV, VDRL, Chagas y Toxoplasmosis (IgG). Si la paciente tiene factores de riesgo para adquirir Hepatitis B durante el embarazo, debe vacunarse y repetir el control de Hbs Ag en el último trimestre.

Las mujeres gestantes deben ser vacunadas si no se demuestra infección previa en el curso del segundo trimestre de gestación. Por tratarse de una vacuna obtenida mediante ingeniería genética, su uso resulta seguro durante el embarazo.

En embarazos sin control es necesario solicitar una determinación urgente de HBs Ag con el fin de identificar al recién nacido que requiera de la indicación

inmediata de la profilaxis específica.
La vacunación contra la Hepatitis B y la administración de Inmunoglobulina dentro de las 24 horas posteriores al nacimiento tienen una eficacia del 85 - 95% para evitar tanto la infección por el VHB como el estado de portador crónico.

Infección por Virus Herpes Simplex (VHS)
VHS tipo 2 es el que está más relacionado con la enfermedad congénita o perinatal (80%). Es además un virus de transmisión sexual, observándose con mayor frecuencia en los niveles socioeconómicos más bajos, con un aumento progresivo desde la adolescencia.
La incidencia de infección neonatal por VHS, es baja, siendo su rango entre 3 a 3/100.000 recién nacidos vivos. La gran mayoría de los casos están relacionados al VHS tipo 2 y el 20% pueden estar relacionados al VHS tipo 1. La transmisión del virus de la madre al hijo puede ser intrauterina, por vía trasplacentaria, poco frecuente; por pasaje a través de canal de parto por contacto con lesiones o secreciones infectadas, que es la más frecuente (80%), describiéndose también por vía ascendente, incluso con bolsa íntegra. En el posparto puede ocurrir la transmisión horizontal a partir de los padres, de otros niños, del personal relacionado a la salud por contacto directo a través de las manos.
Es importante tener en cuenta que el riesgo para que un niño se infecte en el canal de parto es mayor si se trata de una primoinfección en la madre (33 al 50%) que, si se trata de una recurrencia, en donde el riesgo es del 3 al 5%. Por esta razón hay que conocer el antecedente si la madre presenta alta frecuencia de recurrencias de herpes genital. La infección puede pasar inadvertida en la mujer o presentar síntomas inespecíficos.
Las manifestaciones clínicas en los niños están en relación directa al momento en que ocurre la infección: durante el primer trimestre de embarazo se describen, aunque en muy baja frecuencia, malformaciones fetales de tal magnitud que pueden llegar a detener el mismo o producir distintas malformaciones. El otro momento crítico es en los últimos días del embarazo o en el posparto, donde la enfermedad se presenta como infección severa con una alta tasa de morbimortalidad, con secuelas neurológicas y oculares tardías de distinta magnitud. En el período posnatal puede manifestarse como una enfermedad sistémica puede afectar múltiples órganos, afección de piel, boca y ojos, incluso encefalitis.

Diagnóstico microbiológico
La infección por HSV, tanto en la embarazada como en el recién nacido, se debe confirmar por métodos directos. Les lesiones cutáneas o mucosas sospechosas (fondo de vesículas) deberán rasparse y el material obtenido se enviará a cultivo o se procesará por inmunofluorescencia directa para detección del antígeno viral.
La RCP puede realizarse en muestras de sangre, hisopado de cuello uterino y LCR del neonato presentando buena sensibilidad pero su costo es elevado con la necesidad de contar con personal entrenado. Es importante saber que los métodos indirectos para búsqueda de anticuerpos (IFI, ELISA; detección de anticuerpos) tienen poca utilidad.
Cuando se sospecha encefalitis herpética en un recién nacido o en un adulto, el análisis de LCR revela pleocitosis linfocitaria, aumento del contenido proteico y una glucosa normal o ligeramente disminuida. El cultivo del virus en este material puede ser positivo en el 25 al 50 % de los casos; mientras que la RCP alcanza una sensibilidad mayor al 90 % y es considerada en la actualidad el método diagnóstico de elección.
Prevención durante el embarazo: la herramienta de prevención más útil es realizar un interrogatorio dirigido, procurando detectar a las pacientes con herpes genital o con riesgo de adquirirlo durante el embarazo (se debe interrogar sobre antecedentes de esta infección en la pareja sexual de la embarazada). Estudiar toda lesión sospechosa e indicar las medidas de barrera o abstinencia sexual si la pareja sexual padece la enfermedad. En aquellas con antecedentes de primer episodio durante el embarazo o de herpes recurrente, se podrá considerar el uso de aciclovir o valaciclovir supresivo en el tercer trimestre.
Prevención en el parto: se hace imprescindible interrogar a la madre sobre infección reciente o la presencia de síntomas y realizar un examen físico para la detección de lesiones compatibles. Con estos datos se planteará la conducta a seguir y qué forma de parto efectuar. La embarazada que presenta lesiones activas cuando se desencadena el trabajo de parto es candidata a la realización de cesárea para evitar la infección neonatal.

Bibliografía
• Consenso de Infecciones perinatales. SAP, comité de infectología. 2015.
• Archivos Argentinos de Pediatría/1999/ Vol 97:3.
• Sepsis neonatal. Actualización. Rev Méd. 30(2),

2008.
• Sepsis en período neonatal. Grupo Hospitales Castrillo. Evid Ped.4-68, 2008.

Capítulo 19

Diarreas infecciosas agudas (dia) y toxiinfecciones alimentarias (tia)

"*Pues habían vivido juntos lo bastante para darse cuenta de que el amor era el amor en cualquier tiempo y en cualquier parte, pero tanto más denso cuanto más cerca de la muerte". (El amor en los tiempos del cólera. Gabriel García Márquez, 1985).*

Históricamente la visión globalizadora del médico frente a un proceso infeccioso antecedió la observación y experimentación del microbiólogo, aquél aún sin conocer el agente infeccioso (J. Snow, I. Semmelweis) logró controlar su diseminación. Esta visión histórica se relaciona con los fundamentos en la propuesta de la presente asignatura (enfoque deductivo, del todo a las partes, de la Bacteriología y Virología Médicas). Como ejemplos les traemos dos enfoques históricos: John Snow y Robert Koch. John Snow identifica la epidemiología del cólera 30 años antes que Robert Koch demostrara el agente causal.

Sobre el modo de transmisión del cólera.
Trabajo original de John Snow (1854).

--La existencia del cólera asiático no puede ser seguida definitivamente, más atrás del año 1769...
...Se necesitaría mucho tiempo para relatar los avances del cólera, sobre diferentes partes del mundo, en algunas de las cuales provocaban gran devastación, en tanto que pasaba ligeramente sobre otras, e incluso dejaba algunas sin tocar al menos que este relato pudiera ser acompañado de una descripción de las condiciones físicas de los lugares, y de los hábitos de la gente, lo cual me es imposible, el mismo sería de poca utilidad.
Sin embargo, existen ciertas circunstancias, relacionadas con la progresión del cólera, que pueden ser establecidas como reglas generales.
Se disemina a través de los caminos de mayor movimiento, nunca tan rápido como lo hacen las personas, sino casi siempre más despacio. Cuando cruza hacia una isla o continente virgen, se le observa primero en los puertos marítimos. Jamás ataca a los tripulantes de barcos que dejan países libres del cólera hacia países donde es prevalente, sino cuando han entrado a puerto, o arribado a sus costas. Su camino exacto entre un pueblo y otro no siempre puede ser trazado pero nunca ha aparecido en sitios a los que no haya podido ser llevado por el tránsito de personas.
Hay también innumerables ejemplos que prueban convincentemente la transmisión del cólera a partir de casos individuales o únicos. Ejemplos libres de toda fuente de error, como se verá después.
Acudí para tomar informes sobre la muerte de la señora Gore. Supe que uno de sus hijos había vivido y trabajado en Chelsea, de donde viajó a su casa aquejado de una enfermedad intestinal, de la cual murió, en uno o dos días el 18 de agosto. Su madre, quien le había atendido, empezó a estar enferma al siguiente día y murió uno más tarde, el 20 de agosto. No se registraron otras defunciones por cólera en ninguno de los distritos metropolitanos hasta después del 26 de agosto, en un lugar situado a dos o tres millas de donde vivía la señora Gore, cercano a Brixton, Norwood, o Lower Tooting.
Los siguientes ejemplos se tomaron del interesante trabajo del doctor Simpson, de York, titulado Observaciones sobre el cólera asiático: "Los primeros casos de una serie ocurrieron en Moor Monkton, aldea agrícola sana, situada a seis millas al noroeste de York. Cuando se manifestó el primer caso, la enfermedad no era conocida en las cercanías; ni tampoco, para ser exactos, en ningún lugar situado a una distancia de treinta millas".
"John Barnes, agricultor de 39 años, principió a estar seriamente enfermo el 28 de diciembre de 1832; dos días antes sufría de diarrea acompañada de calambres. Fue visitado e interrogado por el doctor George Hopps (un respetable cirujano de Redhouse) al cual acompañó su hermano, el señor J.Hoops, del poblado de York, quienes le encontraron al borde del colapso. Este experto médico identificó rápidamente el cuadro como cólera asiático; dio especial atención a la investigación de esta enfermedad e inmediatamente buscó alguna probable fuente de contagio, sin lograr encontrarla. Al día siguiente volvió a visitar al enfermo y lo encontró muerto; la esposa del señor Barnes, Matthew Metcalfe y Benjamín Muscroft, quienes visitaron a Barnes el día ante-rior enfermaron, pero continuaron trabajando y se recuperaron. John Foster, Ann Dunn y la viuda Cryki, estuvieron en contacto con los pacientes arriba señalados y solo presentaron síntomas leves de la enfermedad.

En tanto, el médico trataba en vano de precisar la forma como la enfermedad se había presentado; el misterio continuaba, hasta que un hijo del fallecido John Barnes llegó al pueblo. Este joven estaba como aprendiz de zapatero con su tío, quien vivía en Leeds; informó al médico que la esposa de su tío (hermana de su padre) había muerto de cólera 15 días antes y, como ella no tenía hijos, sus ropas fueron enviadas a Monkton como carga común. Estas ropas no habían sido lavadas; Barnes abrió la caja por la tarde y al día siguiente cayó enfermo de cólera".

"Durante la enfermedad de la señora Barnes, su madre (quien vivía en Tockwith, comunidad sana a cinco millas de Moor Monkton), fue llamada para que la atendiera. Llegó a casa de su hija y permaneció dos días cuidándola y lavando la ropa blanca, después de lo cual regresó a Tockwith en aparente buen estado de salud, pero en el camino enfermó y cayó en colapso. Fue transportada a su casa y colocada en cama al lado de su esposo; este y una hija que vivían con ellos adquirieron la enfermedad y los tres murieron en el curso de dos días. Otro caso más ocurrió en el poblado de Tockwith, pero no fue fatal".

"Un pintor procedente de Hull, comunidad donde prevalecía el cólera, de nombre y edad desconocidos, llegó al poblado de Pocklington y se alojó en la casa de Samuel Wride; enfermó el mismo día de su llegada (8 de septiembre) y murió al siguiente. Samuel Wride fue atacado por el cólera el 11 de septiembre y murió enseguida..."

Revisando las publicaciones y trabajos médicos sobre el cólera se puede integrar fácil-mente un gran volumen de casos similares a los mencionados anteriormente. Por esta vez los ejemplos señalados son suficientes para demostrar que el cólera puede transmitirse de una persona enferma a una sana, ya que es imposible que ni siquiera la décima parte de estos casos pudieran seguir uno a otro por mera coincidencia y sin nin-guna relación de causa y efecto.

Además de los hechos arriba mencionados que demuestran que el cólera se transmite de persona, existen otros que muestran primero, que el convivir con un enfermo en la misma habitación y atenderlo, no exponen a la persona necesariamente a la acción del veneno mórbido; y segundo, que no siempre es requisito indispensable que la persona se acerque mucho al enfermo para ser atacada, ya que la materia mórbida puede transmitirse a distancia. Si se acepta que el cólera es una enfermedad contagiosa o transmisible, esta debe propagarse a través de efluvios que emanan del enfermo hacia el aire que lo rodea y que penetran en los pulmones de quienes los inhalan. Esta suposición ha producido opiniones muy contradictorias respecto al padecimiento. Sin embargo, a través de una pequeña reflexión podemos ver que no tenemos derecho a limitar las vías por las cuales una enfermedad pueda propagarse, pues las enferme-dades transmisibles de las que tenemos un conocimiento correcto, se diseminan de muy diferentes formas, tal como ocurre con el prurito y otras enfermedades de la piel, la sífilis y las parasitosis intestinales, todas las cuales tienen formas de propagación diferente una de las otras.

Considerando la patología del cólera, es posible encontrar la manera como se transmite. Si se iniciara con fiebre o cualquier otro síntoma general, no podríamos obtener ninguna pista sobre la vía de entrada al organismo de la sustancia mórbida; podría ser que ingresara por el tracto digestivo, los pulmones o en alguna otra forma; pero este punto debería estar determinado por circunstancias no relacionadas con la patología de la enfermedad. Por todo lo que he podido aprender sobre el cólera, tanto a través de observación personal, como por las descripciones de otros autores, puedo afirmar que el cólera se inicia invariablemente con trastornos en el digestivo que a menudo son precedidos de solo un pequeño malestar general, que hace al paciente no darse cuenta del peligro que corre ni consultar o pedir consejo sobre su estado de salud, hasta que la enfermedad ya está muy avanzada. En verdad, unos pocos casos, presentan des-vanecimiento, debilidad intensa y abatimiento general antes de que las descargas gastrointestinales aparezcan; pero no hay duda de que estos síntomas dependen de la exudación de la membrana mucosa, que es abundantemente evacuada enseguida. En todos los casos de cólera que atendí, la pérdida de fluidos del estómago y el intestino fue suficiente para producir el colapso; debe tomarse en cuenta el estado general previo del paciente, junto con brusca aparición de la pérdida de fluidos y la circunstancia de que los procesos de absorción parecen haberse suspendido.

Las enfermedades que se transmiten de persona a persona son ocasionadas por alguna sustancia que pasa del enfermo al sano, y que tienen la propiedad de crecer y multiplicarse en el organismo de la persona atacada. En la sífilis, la varicela y la viruela te-

nemos pruebas físicas del aumento de esta sustancia mórbida, mientras que en otras enfermedades transmisibles la evidencia de este aumento, derivada de la extensión y gravedad del cuadro, es igualmente concluyente. Hemos visto que el cólera se inicia como una enfermedad del tubo digestivo, así como que al iniciarse la enfermedad, la sangre no se encuentra bajo la acción de ningún veneno; por lo tanto, puede pensarse que el material o sustancia mórbida que lo produce penetra al organismo por el tubo digestivo, siendo deglutido accidentalmente por personas que no lo tragarían intencionalmente; y el aumento de esta sustancia mórbida o veneno debe llevarse a cabo en el interior del estómago y el intestino. Parecería que cuando el mencionado veneno se produce en cantidad suficiente, actúa como un irritante sobre la mucosa gastrointestinal; o lo que es más probable, removiendo fluido de la sangre circulante de los capilares, por un mecanismo análogo al que usan las células epiteliales de varios órganos al absorber las diferentes secreciones en el cuerpo sano. Ya que la sustancia mórbida del cólera tiene su propia manera de producirse, debe tener una estructura semejante a la de una célula. No contradice este punto de vista el que el veneno del cólera no pueda reconocerse por el microscopio, ya que también los materiales de la varicela y el chancro, pueden solo reconocerse por sus efectos, y no por sus propiedades físicas.

El tiempo transcurrido entre la entrada de la sustancia mórbida al organismo y el principio de la enfermedad, es llamado período de incubación, que es en realidad período de reproducción de la sustancia mórbida; así la enfermedad resulta de la acción de una pequeña cantidad de veneno inicialmente introducida. En el cólera, este período de incubación o reproducción es mucho más corto que en otras enfermedades epidémicas o transmisibles. En los casos mencionados vimos que generalmente es de 24 a 48 horas. Este período de incubación tan corto, así como la cantidad de sustancia mórbida arrojada en las heces, hacen que algunas veces el cólera se disemine con una rapidez no conocida en otras enfermedades.

Los ejemplos en que cantidades pequeñas de las deyecciones de los enfermos han sido tragadas son suficientemente numerosos para apoyar esta diseminación de la enfermedad; al examinarlos encontramos que la diseminación aumenta cuando las facilidades para este modo de transmisión son mayores. Se encontró que nada favorece más a la propagación del cólera que la carencia de aseo personal, ya sea por hábito o por carencia de agua, sin embargo estas circunstancias permanecieron inexplica¬das por mucho tiempo. La ropa de cama casi siempre es mojada por las evacuaciones, pero como estas son desprovistas de su olor habitual, las manos de las personas que cuidan al enfermo se ensucian o contaminan sin que ellos se den cuenta; y al menos que sean muy escrupulosas en su aseo personal y laven sus manos antes de tomar alimentos, pueden tragar accidentalmente material evacuado o bien contaminar con él los alimentos que preparan y manejan para ser consumidos por el resto de la familia, que por pertenecer a la clase obrera muchas veces consume sus alimentos en el mismo cuarto del enfermo; y es así como suceden miles de ejemplos en esta clase de población en los que un caso de cólera en un miembro de la familia es seguido de más casos, en tanto que el médico y otras personas que solo visitaban a los enfermos gene¬ralmente escapan a la enfermedad. El examen postmortem de los que murieron de cólera, no ha sido seguido por la enfermedad, ya que es un deber que necesariamente obliga al lavado cuidadoso de las manos, así como porque los médicos no tienen el hábito de consumir alimentos en tales ocasiones. Por otro lado, el manejo del cadáver (amortajarlo y acomodarlo), cuando era efectuado por mujeres de la clase obrera que tienen la costumbre de comer y beber en tales ocasiones, eran atacadas por el cólera; personas que solamente asistían al funeral y que no tuvieron ningún contacto con el cadáver, con frecuencia también contraían la enfermedad; tomando en consideración estos puntos, es evidente la participación de los alimentos preparados o manipulados por personas que atendieron al paciente o que manejaron sus ropas personales o de cama.

La diseminación involuntaria de las evacuaciones en los casos más graves de cólera, también debe ayudar a su propagación. El señor Baker, de Staines, quien en 1849 atendió 260 casos de cólera y diarrea, principalmente entre gente pobre, me informó en una carta que hizo favor de enviarme en diciembre del mismo año, que "cuando los pacientes diseminaban involuntariamente sus heces, la propagación se hacía evidente ". Esto sucede entre los pobres donde una familia entera duerme, cocina, come y lava en un solo cuarto; también se observó que la enfermedad una vez introducida se propagaba y permanecía más tiempo en las llamadas posadas comunes en donde

varias familias se hacinaban en un solo cuarto. Entre los vagabundos que viven en este mismo estado de aglomeración, el cólera alcanzó su mayor gravedad en 1832; gracias a una medida del Parlamento para la regulación de las posadas comunes, los casos fatales de cólera disminuyeron en la última epidemia. Cuando al contrario el cólera es introducido a casa de mejor clase, como sucede a menudo, se encontró que era difícil se propagara de un miembro a otro de la misma familia. Esto se debe al uso regular de palangana y toalla, así como al cocinar y comer en un cuarto separado del enfermo.

La población minera de la Gran Bretaña ha sufrido más del cólera que el resto dedicado a otras actividades; esta particularidad yo creo puede ser explicada por la manera ya señalada de transmitirse la enfermedad. La situación de los excavadores es diferente a la de otros trabajadores por muchas circunstancias fundamentales; en todas las minas y, principalmente las de carbón, se carece de letrinas, el trabajador tiene que permanecer largo tiempo dentro de la mina estando así obligado a llevar la comida consigo mismo y comerla siempre sin lavarse las manos y sin cuchillo ni tenedor.

La siguiente es la respuesta a una pregunta que hice en una mina conectada con una carbonería cercana a Leeds: " nuestros carboneros descienden a las cinco de la mañana para estar listos y empezar a trabajar a las seis y abandonan el tiro entre las tres y media y cuatro de la tarde, permaneciendo dentro de la mina un promedio de ocho a nueve horas. El minero lleva consigo al descender su provisión de comida, que con-siste en pan y algunas veces carne y todos llevan una botella conteniendo un cuarto de "bebida". Temo que nuestros carboneros no están mejor que otros con respecto a la limpieza. El "tiro" es una inmensa letrina y por supuesto el trabajador siempre consume sus víveres sin lavarse las manos. De esta manera es evidente que si el minero es atacado por el cólera cuando está trabajando, la enfermedad se propaga a sus compañeros de trabajo con más facilidad que en otras ocupaciones. En Northum Berland, en el invierno de 1831-1832 he visto sacar de las minas a hombres atacados ocasionalmente mientras trabajaban y después de haber tenido grandes descargas gastrointestinales, estaban cercanos al colapso...

Si el cólera no tuviera otras formas de transmisión que las que se han expuesto, forzosamente se limitaría casi exclusivamente a las viviendas atestadas de un lugar, por falta de oportunidad para encontrar nuevas víctimas; pero existe a menudo una vía abierta que le permite extenderse por si mismo, y atacar a las clases acomodadas de la comunidad; estoy refiriéndome al hecho de que las evacuaciones de los enfermos de cólera se mezclan con el agua que se usa para beber y para el consumo doméstico, ya sea atravesando el terreno que rodea los pozos o cisternas, o bien corriendo por canales que desaguan en ríos de donde algunas veces poblaciones enteras se abastecen de agua.

Robert Koch

"En 1883, el cólera asiático se había presentado ante las puertas de Europa; escapado de sus escondrijos de la India, se escurrió a través de mares y desiertos hasta llegar a Egipto, y repentinamente estalló en Alejandría una epidemia mortal, sembrando el pánico en la Europa mediterránea. El miedo dejaba desiertas las calles de Alejandría. El microorganismo asesino-nadie tenía la menor idea de la clase de bicho que era- se introducía sigilosamente por la mañana, en hombres rebosantes de salud; a la tarde, los hacía retorcerse con espasmos, y por la noche los ponía ya fuera de las garras de todo sufrimiento.

Fue entonces cuando se inició la carrera frenética entre Koch y Pasteur, es decir, entre Alemania y Francia, para descubrir el microbio causante de aquel cólera que fulguraba amenazador en el horizonte. Armados de microscopios y de un verdadero parque zoológico, Koch y Gaffky partieron de Berlín. En aquellos momentos Pasteur estaba ocupadísimo en la conquista del misterioso microbio de la rabia, así que envió al brillante y fiel Emilio Roux, y al silencioso Thuiller, el más joven de los cazadores de microbios de Europa.

Koch y Gaffky trabajaron sin acordarse de comer ni de dormir, practicando, en locales horribles, la disección de cadáveres de egipcios víctimas del cólera; en un sofocante laboratorio en donde la atmósfera casi se resolvía en gotas de humedad asfixiante, mientras las gotas de sudor se deslizaban por la punta de la nariz sobre los oculares de los microscopios. En estas condiciones, inoculaban a monos, perros, gallinas, ratones y gatos con material procedente de los cadáveres de los alejandrinos recién fallecidos. Y mientras los dos equipos investigadores rivales buscaban frenéticamente, la epidemia decinó de modo tan misterioso como había aparecido. Hasta entonces, nin-guno de ellos había encontrado microbio alguno al que acusar, y todos ellos (y no deja de

haber cierto humorismo macabro) se lamentaron al ver cómo, al retroceder de la muerte, se les escapaba la ocasión de atrapar a su presa.
Koch y Graffky estaban haciendo los preparativos para el regreso a Berlín, cuando, una mañana, un azorado mensajero les dio la siguiente noticia:
--El doctor Thuiller, de la comisión francesa, ha muerto de cólera.
Como buenos patriotas que eran, Koch y Pasteur se odiaban sincera y apasionada-mente; pero, en esta ocasión, ambos germanos fueron a darle el pésame y a ofrecerle sus servicios al atribulado Roux. Koch fue uno de los que acompañaron hasta su última morada el cuerpo de Thuiller, encerrado en una sencilla caja. Este joven osado, muerto por el miserablemente débil pero traidor microbio del cólera, no tuvo oportunidad de descubrirlo y de ponerle la mano encima. Junto a la tumba, Koch depositó unas coronas sobre el ataúd y dijo:
-- Son muy sencillas, pero son de laurel, como las que se ofrecen a los héroes...
Terminado el funeral del primer microbiólogo mártir, Koch se apresuró a regresar a Berlín, llevando unas misteriosas cajas de preparaciones teñidas con poderosos colo-rantes, preparaciones que contenían un curioso microbio en forma de coma. En su informe al Ministro del Interior, Koch decía:
"En todos los casos de cólera encontré el mismo microbio: pero aún no he comprobado que sea el causante. Envíeme usted a la India, donde el cólera es endémico, pues lo que he descubierto justifica mi petición."
Y Koch partió de Berlín rumbo a Calcuta, sintiendo que la muerte de Thuiller se cernía sobre él. Llevaba cin-cuenta ratones, y estaba terriblemente molesto por el mareo. Muchas veces he pensado en la opinión que se formarían de él sus compañeros de travesía; probablemente lo tomarían por un celoso misionero o por un austero profesor dispuesto a ahondar en el misterio de las tradiciones indostánicas.
En cada uno de los cuarenta cadáveres que examinó, Koch encontró su bacilo en forma de coma. También lo descubrió en los intestinos de los pacientes, en el primer momento de ser atacados por la enfermedad fatal, pero no lo halló en ninguno de los cintos de indios sanos que examinó, ni en animal alguno, desde ratones hasta elefantes.
Enseguida consiguió cultivar el bacilo coma en gelatina de caldo, y una vez que lo tuvo aprisionado en los tubos estudió las costumbres de este maligno ser microscópico. Descubrió que perecía rápidamente cuando se desecaba lo más mínimo, y que se transmitía a las personas sanas por medio de las ropas manchadas de los muertos de cólera. Los rastreó en el agua pútrida de las cisternas, en torno de las cuales se apiñaban las miserables chozas de los indios, tristes tugurios de donde salían los lamentos de los que morían, irremisiblemente, víctimas del cólera.
Cuando por fin regresó a Alemania, fue recibido como un general victorioso de la guerra.
--El Cólera jamás brota espontáneamente--dijo ante un auditorio de sabios médicos--; no hay posibilidad de que ningún hombre sano sea atacado por el cólera, a menos que ingiera el bacilo coma, bacilo que sólo puede nacer de sus iguales; no puede ser engendrado por ninguna otra cosa ni es dable que surja de la nada. Sólo puede desarrollarse en el intestino del hombre o en aguas muy contaminadas, como las que existen en la India.
Gracias a estas arriesgadas investigaciones de Robert Koch, el mundo puede lograr controlar y erradicar su infección. Su completo exterminio se encuentra ya en nuestras manos". (Modificado de Los Cazadores de microbios. 1938. de Kruif, Paul).

Introducción

La conexión del organismo humano con el ambiente externo se produce a través de nuestro aparato gastrointestinal (GI). Los materiales que deglutimos entran en el aparato GI desde la boca atravesando el esófago, el estómago, el duodeno y el intestino delgado, el intestino grueso y por último son eliminados; después de los procesos de digestión, por el ano. Durante este tránsito se van agregando líquidos producidos por la secreción enzimática de órganos y glándulas para constituir la materia fecal.
Esta apertura al exterior por dos extremos hace que el aparato gastrointestinal sea una zona microbiológicamente colonizada por un sinnúmero de microorganismos que constituyen uno de los nichos ecológicos bacterianos más abundantes y diversos del cuerpo humano.
A lo largo de su trayecto es sólo el estómago quien posee menor número de bacterias colonizantes. En él se puede encontrar cohabitando con la gran acidez estomacal
Helicobacter pylori, un bacilo Gram negativo espiri-

lar que resiste altas concentraciones de ácido clorhídrico, siendo el agente etiológico en muchos casos de las úlceras gástricas.
El resto del tracto gastrointestinal se halla altamente colonizado por bacterias tanto aerobias como anaerobias en una relación de 1:100 a 1:1000 de las primeras con respecto a las segundas. Las aerobias están representadas en su mayoría por miembros de la familia Enterobacteriaceae, siendo Escherichia coli el agente más frecuente. El resto de las bacterias aerobias está representado por Enterococcus spp. y Streptococcus spp.. Las bacterias anaerobias pertenecen a los géneros Bacteriodes, Bifidobacterium, Eubacterium, Peptostreptococcus y Clostridium. En este último grupo es importante señalar a Clostridium difficile, un bacilo Gram positivo anaerobio esporulado que traerá consecuencias nefastas en el paciente; a pesar de ser integrante de la flora normal.
Las enfermedades diarreicas agudas continúan siendo uno de los problemas de Salud Pública más serios en los países en desarrollo, en los que constituyen una de las causas principales de enfermedad y muerte en los niños menores de 5 años. Son una de las principales causas de morbilidad y de consulta ambulatoria, en particular asociadas a condiciones de pobreza.
En todo el mundo las enfermedades diarreicas ocupan el segundo lugar como causa principal de muerte, produciéndose aproximadamente 25 millones de infecciones intestinales por año ocasionando morbilidad y mortalidad sobre todo en los extremos de la vida. Se estima que casi 4 a 6 millones de niños fallecen cada año como consecuencia de esta patología con mayor frecuencia en países de África y Asia. Incluso la morbilidad es altísima en países desarrollados.
En la región de las Américas, las enfermedades diarreicas se encuentran entre las cinco causas de muerte en todas las edades en 17 países, constituyen la primera causa de muerte en cinco y la segunda en cuatro de ellos. Si bien los niños son los que sufren mayor morbilidad y mortalidad, las enfermedades diarreicas también afectan a otros grupos de población. En promedio, los niños padecen 3,3 episodios de diarrea al año, pero en algunas áreas, puede ser superior a nueve episodios anuales. Aunque es una enfermedad generalmente autolimitada, en algunos casos es una causa de muerte, fundamentalmente en forma secundaria a la deshidratación y la desnutrición.
En los países desarrollados, donde las muertes por diarreas son inusuales, se observan ingresos hospitalarios por complicaciones tales como deshidratación grave e insuficiencia renal, sobre todo en pacientes ancianos.
En las últimas décadas, las enfermedades diarreicas agudas han sido objeto de considerable atención mundial y se han dirigido esfuerzos a controlar estas afecciones.
Particularmente se ha enfatizado el uso de las Sales de Rehidratación Oral (SRO) para prevenir la deshidratación, que es la principal causa de mortalidad en niños y ancianos con esta enfermedad. Sin embargo, a pesar de las recomendaciones, aún se utilizan planes de hidratación endovenosos en casos de pacientes con deshidratación leve y se indican antimicrobianos y antidiarreicos, en forma indiscriminada.
Si bien la mayoría de los episodios son autolimitados, como ya se mencionara, un número determinado de pacientes requiere diagnóstico y tratamiento.

Importancia de las diarreas agudas como causa de muerte.

Principales causas de muerte según la Organización Mundial de la Salud.

Muertes	
3.700.000	Infecciones respiratorias bajas en menores de 5 años
2.900.000	Tuberculosis
2.500.000	Diarrea, en menores de 5 años
2.300.000	HIV/SIDA
2.000.000	Malaria
2.000.000	Hepatitis B
1.160.000	Sarampión

Como ocurre con otros agentes infecciosos, los agentes entéricos deben poseer factores de virulencia importantes para sortear los mecanismos de defensa ofrecidos por el tracto gastrointestinal.
El hospedero humano tiene numerosas defensas, que por lo general previenen y controlan las enfermedades producidas por los patógenos entéricos. Entre ellos se destacan: la acidez gástrica, el peristaltismo normal, la producción de moco y la presencia de la microbiota normal. También intervienen mecanismos inmunológicos como la producción de inmunoglobulina A secretora.
Pero no sólo estos factores tienden a impedir la colonización de un microorganismo patógeno sino que por el contrario, la higiene personal y la edad del huésped juegan un rol preponderante. La vía de contagio más frecuente es la vía fecal-oral.

A pesar de esto, los patógenos entéricos están altamente especializados para sortear estos mecanismos defensivos a través de la presencia de factores de virulencia entre los que se destaca la capacidad para sortear el pH ácido del estómago, la producción de toxinas que, elaboradas o no fuera del organismo, pueden llegar al aparato GI y desencadenar la patogenia deseada; la adherencia, la movilidad intracelular, la producción de enzimas y la invasividad.

Las toxinas producidas por los enteropatógenos son exotoxinas. Las toxinas (del griego toxicón: veneno) son sustancias de naturaleza variada, altamente virulentas. A los fines prácticos las toxinas se clasifican en: endotoxinas y exotoxinas.

Una endotoxina es siempre de naturaleza lipídica y se encuentra formando parte de la porción más interna de la membrana externa de la pared celular de las bacterias Gram negativas (lípido A), por ende es exclusiva de estas bacterias. Para producir su efecto toxigénico, que consiste en la mayoría de los casos en un choque pirogénico (disparador de fiebre), la bacteria debe destruirse. Esta endotoxina no interviene en la producción de trastornos gastrointestinales.

Una exotoxina, por el contrario, es de naturaleza proteica y entonces antigénica, normalmente codificada por fagos. La bacteria, una vez que la produce, la libera al medio ya sea éste, el alimento o la luz intestinal, donde encuentra una célula receptora. Las exotoxinas son producidas en su mayoría por bacterias Gram positivas. Raras son las excepciones de bacterias Gram negativas capaces de producir exotoxinas; pero como tales se les confiere un enorme interés: Vibrio cholerae y Escherichia coli Enterotoxigénica (ETEC) son los dos ejemplos importantes de este grupo porque constituyen dos agentes enteropatógenos de relevancia clínica.

Las exotoxinas bacterianas productoras de diarreas y toxiinfecciones alimentarias se dividen a su vez en tres grupos importantes:

· las enterotoxinas
· las citotoxinas
· las neurotoxinas

Las enterotoxinas alteran la actividad metabólica de las células del epitelio intestinal, lo que produce un derrame de agua y electrolitos a la luz con escasa reacción inflamatoria (síndrome coleriforme) mientras que las citotoxinas ejercen su acción alterando la estructura de cada célula epitelial intestinal produciendo un desprendimiento de las mismas de la superficie mucosa con una importante reacción inflamatoria e inclusive sangrado de la mucosa (síndrome de exfoliación de la mucosa o esfacelo). La acción de una citotoxina no es única sino que viene combinada con algún otro factor de virulencia que a veces supera a la acción de la toxina misma, generalmente la invasión bacteriana del enterocito (síndrome disenteriforme).

Las neurotoxinas son producidas generalmente por microorganismos que se encuentran en alimentos que no han sido tratados con las normas de bioseguridad adecuadas y por ende se han contaminado. Ingresan al tracto digestivo como toxinas preformadas y afectan escasamente al mismo, ejerciendo su acción patógena sobre el sistema nervioso. Esto es característico de algunas infecciones especiales como lo es el botulismo: enfermedad causada por el Clostridium botulinum, un bacilo Gram positivo, anaerobio, esporulado con capacidad para producir una neurotoxina, quizás, el veneno más potente conocido en la naturaleza.

Como se podrá apreciar la comprensión de estos mecanismos intrínsecos hace que la patología gastrointestinal infecciosa sea uno de los capítulos más difíciles de comprender y abordar para su interpretación diagnóstica y terapéutica.

Hasta aquí podríamos decir que:

• La patología diarreica aguda es una entidad donde interactúan el hospedero, el medio y el agente infeccioso, de un modo muy particular.
• El conocimiento descriptivo del agente y su terapéutica no son suficientes para evitar la difusión del patógeno en la comunidad.
• Para controlar la morbilidad y la mortalidad de las enfermedades diarreicas agudas se hace necesario interactuar con un conjunto de factores relacionados al hospedero (defensas) al medio (higiene, saneamiento ambiental, países en vías de desarrollo) y al agente infeccioso (factores de virulencia) de tal importancia como para ser considerados también factores etiológicos.
• Es una de las patologías infecciosas frecuentes que puede comprometer la vida del paciente si evoluciona a una deshidratación severa.
• Es la causa más frecuente de morbilidad-mortadad infantil en los países en vías de desarrollo.
• En la mayoría de los casos es un proceso autolimitado, de corta duración (24-48 horas) y pocos casos

requieren terapéutica antimicrobiana. El diagnóstico microbiológico adquiere importancia fundamentalmente con fines epidemiológicos y a veces con fines terapéuticos ya que el más alto porcentaje de episodios revierte con hidratación y dieta.

• El control de la complejidad de los factores etiológicos asociados a la enfermedad diarreica aguda constituye un desafío para la comunidad y un importante problema de Salud Pública:

"...Las condiciones del saneamiento ambiental, el evidente sinergismo con la desnutrición, las pautas regionales, etc.; hacen que cualquier actividad de control de esta enfermedad suponga algo más que restringir la morbilidad-mortalidad y se ligue estrechamente a las actividades totales de salud y al desarrollo socioeconómico de los pueblos..." Dr. Ariel Depetris (Organización Panamericana de la Salud).

Definición de términos

Diarrea:

La diarrea es un síndrome clínico de comienzo brusco y duración limitada, que en forma secundaria a una alteración en el transporte y absorción de electrolitos y agua, se caracteriza por el incremento en el número de evacuaciones al día y alteración en la consistencia de las heces, acompañado de otros síntomas como vómitos, náuseas, dolor abdominal o fiebre. En nuestro país la Sociedad Argentina de Pediatría en su último consenso, define la diarrea aguda como: "aumento de la frecuencia, fluidez y/o volumen de las deposiciones, con pérdida variable de agua y electrolitos y cuya duración es menor de 14 días", mientras que la OMS define a la diarrea aguda en menores de 2 años como "la eliminación de heces semilíquidas en número de 3 ó más en 12 horas, o una sola deposición anormal asociada a la presencia de moco, pus o sangre". Su duración es variable, aunque generalmente está limitada a una semana; si persiste más de 14 días se define como prolongada. Es importante comparar el ritmo evacuatorio habitual del paciente con el proceso definido como diarrea y recordar que en un gran número de casos no es de etiología infecciosa, pudiendo considerarse otros elementos causales en la producción de la misma como ingesta de laxantes, alteraciones del ritmo evacuatorio por stress.

La mayor parte de las diarreas se adquieren por transmisión a través de ingestión de agua o alimentos contaminados (cuando en los mismos hay presencia de un agente etiológico: bacterias, virus o parásitos). Entre las causas más frecuentes se señalan la mala manipulación y contaminación de los alimentos y condiciones higiénico-sanitarias deficientes. Otros factores que incrementan el riesgo de diarrea son el bajo peso al nacer, algunas enfermedades de base o intercurrentes como las enfermedades inmunosupresoras, entre otras.

Toxiinfección alimentaria:

Es aquella que reconoce como antecedente epidemiológico la ingesta de alimentos contaminados, en cuyo proceso interviene la producción de una toxina (exotoxina) por parte de un agente infeccioso presente en los mismos. En este caso la diarrea es un signo importante de la toxiinfección. Es la consecuencia del envenenamiento por la ingesta de alimentos.

Cuando en la consulta diaria se nos presente un caso de diarrea se deben realizar al menos las siguientes preguntas que ordenarán el proceso electivo para el diagnóstico clínico, epidemiológico y etiológico:

• ¿Tiene relación con alimentos ingeridos?

Si la respuesta es positiva podríamos relacionar un determinado tipo de alimento sospechoso con un agente etiológico. Por ejemplo: pescado crudo o mal cocido con Vibrio cholerae.

• ¿Tiene relación con la ingesta de medicamentos? ¿Alguno de esos medica-mentos ingeridos son antimicrobianos?

Muchos medicamentos pueden ejercer un efecto citotóxico en las células epiteliales intestinales. Los antimicrobianos pueden ejercer a su vez un mecanismo de presión selectiva sobre individuos que constituyen la microbiota normal del tracto gastrointestinal, es decir seleccionar un agente de la misma y que este agente se transforme en patógeno intestinal. Por ejemplo: colitis pseudomembranosa por Clostridium difficile.

• ¿Es un caso único o son varios los afectados por la patología? ¿Contactos? Esta pregunta obedece a la posibilidad de detectar brotes epidémicos. Los brotes epidémicos ocurren en ciertas áreas geográficas relacionadas con la presencia de un agente causal residente del área, con la ingesta de determinados alimentos y en deter-minadas épocas del año (por ejemplo diarreas virales en invierno) o en grupos cerrados: pacientes hospitalizados, guarderías, grupos familia-

res, fiestas familiares.

Factores de riesgo y protectores

Hay ciertos factores que pueden considerarse de riesgo, así como otros factores protectores para adquirir una diarrea, tanto inherentes a condiciones del sujeto como a condiciones socio-sanitarias:

Factores de riesgo

Factores socio-económicos: Hacinamiento, falta de acceso al agua potable, falta de posibilidades de refrigeración de los alimentos, sistema de eliminación de excretas ineficiente, falta de acceso a información, dificultad de acceso a los servicios de salud, dificultad para aplicar los cuidados necesarios al paciente, analfabetismo, desocupación.

Factores del huésped: Niños menores de un año, falta de lactancia materna exclusiva durante los primeros 6 meses de vida, uso de biberones, desnutrición e inmunosupresión.

Factores protectores

• Lactancia materna exclusiva durante los primeros 6 meses de vida.
• Alimentación complementaria adecuada a partir de los 6 meses.
• Medidas higiénicas adecuadas.

Mecanismos fisiopatogénicos

Se reconocen en la actualidad, cuatro mecanismos diferentes de producción de diarrea:

1. Mecanismo Toxicogénico o Toxigénico: mediado por una exotoxina (enterotoxina) que ocasiona secreción de fluidos (agua y electrolitos) desde la célula epitelial intesti¬nal hacia la luz del intestino. Este mecanismo se caracteriza por presentar diarreas acuosas, sin pus ni sangre; donde es muy difícil encontrar al agente etiológico y el diagnóstico se realiza preferentemente a los fines epidemiológicos intentando la detección de la toxina. El proceso clínico finaliza una vez eliminada la toxina del organismo. La mayoría de estos procesos son autolimitados. El cuadro clínico se conoce como síndrome coleriforme.

2. Mecanismo Invasivo: las bacterias invaden, se multiplican y destruyen la célula epi-telial de la mucosa y subsecuentemente se pierde la función de absorción de la misma. En muchos casos intervienen las citotoxinas que ayudan al desprendimiento de esas células. Las diarreas se caracterizan por ser muco-pio-sanguinolentas y la presencia del microorganismo en el tracto gastrointestinal es primordial para que esto ocurra. El diagnóstico se basa en el aislamiento del agente etiológico en la muestra de materia fecal. El cuadro clínico se denomina síndrome disenteriforme.

3. Mecanismo de Adherencia: en este mecanismo no hay producción de toxinas ni invasión, sino capacidad de adherencia por parte del agente etiológico a la mucosa intestinal que impide la funcionalidad normal del epitelio por alteración de la superficie epitelial dando como resultado un síndrome de mala absorción.

4. Mecanismo de Destrucción Selectiva de la Función Celular: corresponde a los microorganismos que invaden las vellosidades de las células mucosas alterando sus funciones y su estructura y dando consecuentemente una diarrea.

Algunas veces no existe una clara delimitación entre los diferentes mecanismos de producción y para determinados agentes el mecanismo es mixto, esto significa que un agente infeccioso se vale de varios factores de virulencia y por ende de distintos mecanismos fisiopatogénicos, para lograr su objetivo.

Agentes etiológicos de diarreas

Los agentes etiológicos productores de diarrea son bacterias, virus y parásitos que llegan al aparato gastrointestinal desde el exterior ya sea en forma directa o a través de la producción de sus toxinas, que son vehiculizados por la ingesta de agua y alimentos. Los hongos como Candida spp., pueden intervenir en la producción de diarreas en casos especiales, como ocurre en los pacientes con inmunosupresión. Es normal aislar en la materia fecal hasta 5000 UFC por gramo de heces en pacientes adultos. La presencia de levaduras en la muestra puede deberse inclusive, a la ingesta de harinas, cerveza y cereales que las contengan. Es por ello que el aislamiento de estos hongos en materia fecal no siempre indica enfermedad.

Las bacterias productoras de diarreas incluyen a cocos Gram positivos (Staphylococcus aureus), Bacilos Gram positivos esporulados aerobios (Bacillus cereus); Bacilos Gram positivos esporulados anaerobios (Clostridium difficile, Clostridium perfringens tipo A y C), Bacilos Gram negativos de la familia Enterobacteriaceae (Escherichia coli, Salmonella spp.,

Shigella spp., Yersinia enterocolitica) y otros bacilos Gram negativos no enterobacterias (Vibrio spp., Vibrio cholerae, Plesiomonas shigelloide, Aeromonas spp., Campylobacter jejuni).
Los virus productores de diarreas son: Rotavirus, Adenovirus 40 y 41, Norovirus (Agente Norwalk), Astrovirus, Calicivirus.
Los parásitos incluyen tanto protozoarios como helmintos. Entamoeba hystolitica, Giardia lamblia, Isospora belli, Crytosporidium parvum, Schistosoma spp., Trichinella spiralis, Taenia saginata y Taenia solium.
No todos los microorganismos que ingresan por vía digestiva producen patología gastrointestinal. Existen algunos agentes que ingresando por vía digestiva no tienen como órgano blanco el epitelio gastrointestinal y otros sólo lo utilizan como una estación blanco que les permite continuar el proceso de invasión. Entre estos se encuentran: el Virus Polio, el Virus de la Hepatitis A, el Virus de la Hepatitis E, las bacterias pertenecientes al género Brucella, Listeria monocytogenes las micobacterias medioambientales potencialmente patógenas (Mycobacterium avium), inclusive la toxina botulínica producida por Clostridium botulinum.

Diagnóstico de las diarreas infecciosas agudas y las toxiinfecciones alimentarias

Son tres los pilares en los que se basa el diagnóstico para llegar al agente etiológico, recordemos: la clínica, la epidemiología y el laboratorio:

Diagnóstico Clínico y Epidemiológico

El diagnóstico de diarrea aguda infecciosa es clínico. Las características del cuadro clínico orientan al agente causal. En la gran mayoría de los cuadros las diarreas que se presentan acuosas sin fiebre y con poco compromiso del estado general son de origen toxigénico mientras que aquellas que lo hagan con fiebre, compromiso del estado general (náuseas, vómitos, aumento del peristaltismo, gases, ruidos hidroaéreos aumentados) y con una franca eliminación de pus y sangre en las heces deben sospecharse como de origen invasivo. Algunos agentes etiológicos debutan como diarreas acuosas y terminan siendo diarreas muco-pio-sanguinolentas.
Interesa resaltar algunos datos que pueden orientar al agente causal: tipo de alimento ingerido (huevos, aves, leche o derivados, mariscos), haber bebido agua no potable, condiciones sanitarias ambientales, presencia de cuadros clínicos similares en el grupo familiar o en la institución que reside el paciente o entre los que comieron el mismo tipo de alimento; tiempo transcurrido entre la ingesta sospechosa y el comienzo de los síntomas; ingesta de medicamentos (antimicrobianos), viajes a otras áreas geográficas, contacto con animales, como señalábamos previamente.
Los factores epidemiológicos para la producción de este cuadro clínico están íntimamente relacionados con el desequilibrio observado en la relación hospedero, agente y medio ambiente y son:

Hospedero:
· Edad
· Estado socioeconómico
· Estado de nutrición
· Higiene personal
· Acidez gástrica
· Estado inmune
· Microbiota normal

Agente:
· Inóculo: la cantidad de microorganismos necesarios para producir patología
· Factores de virulencia (toxinas - invasividad - factores de colonización).

Medio Ambiente:
· Saneamiento ambiental
· Agua potable
· Control de alimentos

Cuando poseo como antecedente epidemiológico:	Debo sospechar como agente etiológico a:
Paciente hospitalizado sometido a tera-péutica antimicrobiana (especialmente antibacterianos de amplio espectro)	Clostridium difficile (flora normal del tracto gastrointestinal pre-seleccionada)
Baños en piscinas públicas	Giardia lamblia (parásito) Cryptosporidium parvum
Ingesta de huevos (mayonesa, cremas pasteleras), y de leche o cremas (derivados) y productos de pastelería	Staphylococcus aureus Salmonella spp.
Ingesta de mariscos	Vibrio spp. Virus Norwalk
Ingesta de queso	Salmonella spp.
Ingesta de pescado	Clostridium botulinum Vibrio cholerae

Ingesta de conservas enlatadas o enfrascadas preferentemente de origen casero, miel y jarabes de maíz	Clostridium botulinum
Ingesta de arroz frito	B. cereus
Ingesta de aves de consumo (pollo especialmente)	Salmonella spp. Staphylococcus aureus Campylobacter spp. E. coli Clostridium perfringens
Ingesta de hamburguesas mal cocidas (niños)	Escherichia coli Enterohemorrágica O157: H7
Ingesta de agua o de verduras y frutas regadas con agua no potable	Muchos de los bacilos Gram negativos mencionados son vehiculizados por el agua: Salmonella spp., Vibrio cholerae, Vibrio spp., Aeromonas spp.; Plesiomonas shigelloide

Relación de los agentes etiológicos productores de diarreas y sus mecanismos de acción

Diarreas y toxiinfecciones alimentarias bacterianas

Las diarreas infecciosas agudas de origen bacteriano constituyen un grupo de enfermedades cuyos agentes etiológicos presentan una variedad imbricada de mecanismos de acción; inclusive es muy difícil poder, a los fines didácticos dar una clasificación única de este tipo de patología.

A los fines prácticos y como introducción diremos que:

· Las diarreas toxigénicas son patrimonio de las bacterias Gram positivas con dos excepciones bien marcadas: Vibrio cholerae y Escherichia coli Enterotoxigénica (ETEC)

· Si bien Vibrio cholerae y ETEC son bacilos Gram negativos su mecanismo de acción es por producción de una exotoxina que actúa en forma similar a las exotoxinas de las bacterias Gram positivas.

· Las diarreas invasivas son patrimonio único de bacterias Gram negativas. Ninguna bacteria Gram positiva produce diarreas invasivas.

· Las diarreas bacterianas son generalmente la consecuencia del ingreso de una bacteria o de su toxina al tracto gastrointestinal, vehiculizadas siempre por un alimento o el agua contaminados.

· Clostridium difficile es la única bacteria productora de diarrea toxigénica que no ingresa desde el exterior por ser habitante de la microbiota gastrointestinal del ser humano, sino que por el contrario es seleccionada con la toma de antimicrobianos.

· Clostridium botulinum es la única bacteria que a pesar de producir exotoxina e ingresar con cierto tipo de alimentos, no produce clínica de infección gastrointestinal; ya que la toxina botulínica es una neurotoxina.

· Existen otras bacterias y/o virus que, como Clostridium botulinum, que a pesar de ingresar por vía digestiva; no tienen órganos efectores directos en el tracto GI: Virus Polio, Virus de las Hepatitis A y E, Brucella spp., Listeria monocytogenes y micobacterias medioambientales.

· Escherichia coli productora de diarrea no pertenece a la microbiota normal. Presenta 5 virutipos (esto significa tipos diferentes de factores de virulencia) y cada uno de ellos posee diferentes mecanismos de acción.

Diarreas toxicogénicas

Fisiopatogenia: El agente se adhiere a una célula epitelial intestinal y libera una toxina que se une a un receptor de la membrana celular. Ese receptor de la membrana celular corresponde a un ganglióside denominado ganglióside M1. Una vez unida la porción activa de la exotoxina a su receptor específico se produce la activación de la enzima adenil-ciclasa que activa el AMP cíclico lo que ocasiona la liberación de gran cantidad de electrolitos y agua a la luz intestinal con edema de la pared y consecuente deshidratación. Los agentes infecciosos implicados en este mecanismo son:

· Vibrio cholerae
· Escherichia coli Enterotoxigénica (ETEC)
·Clostridium perfringens
·Clostidium difficile
·Staphylococcus aureus
·Bacillus cereus.

Vibrio cholerae: agente etiológico del cólera. Las cepas implicadas en la producción del cólera aglutinan con un antisuero dirigido contra el Antígeno O, denominándose Vibrio cholerae O1. Existen más de 60 serotipos de V. cholerae, pero sólo los serogrupos O 1 y O 139 causan brotes epidémicos. La cepa O1 causa la mayor parte de los brotes, mientras que el O139, que se identificó por vez primera en Bangladesh en 1992, está confinado al Asia Sudoriental. Recientemente se

identificaron nuevas variantes en diferentes regiones de Asia y África, que podrían ocasionar un cuadro de cólera más grave con tasas de letalidad más elevadas. Las cepas de Vibrio cholerae que no aglutinan con estos antisueros O1 y O139 pueden producir un cuadro diarreico semejante al del cólera.
El Vibrio cholerae O1 se subdivide en dos biotipos fundamentales: clásico y El Tor. Ambos biotipos pueden distinguirse por varias características pero la más importante es la contundente betahemólisis que produce el biotipo El Tor.
La mayor parte de las pandemias previas a 1961 fueron producidas por el biotipo clásico, en la actualidad confinado a Bangladesh, país asiático en la zona de los vientos monzones. El biotipo El Tor se diseminó desde Indonesia a otras regiones de Asia durante la década de los sesenta; a las regiones del Sudeste europeo, África e islas del Pacífico durante la década de los setenta, y persistió en forma endemo-epidémica en África. En 1991 aparecieron los primeros casos de cólera en Perú; extendiéndose a otras regiones de Latinoamérica y Estados Unidos, llegando a nuestro país; sin embargo ya habían existido otros brotes en nuestra región en el siglo XIX.
Después de 100 años de ausencia en las Américas, el 7 de febrero de 1991 se denuncia el primer caso de cólera en el Puerto de Chimbote de la República del Perú. 48 ISSN 1852-1819 / ISSN 1852-219X (en línea) Plan de Contingencia de Riesgo de Cólera en Argentina A partir de esa fecha se produce la propagación de la enfermedad en América Latina, llegando a nuestro país en el mes de febrero de 1992, en la región del Río Pilcomayo, provincia de Salta, frontera lindante con la República de Bolivia. Su ingreso fue multifocal y desde esa fecha, se notificaron casos anualmente con confirmación bacteriológica. En ese contexto, por Resolución Ministerial Nº 302/91 se crea la Comisión Nacional de Prevención y Control del Cólera en el ámbito de la ex Subsecretaría de Política de Salud y Acción Social. El 16 de enero de 1992, el Presidente de la Nación decreta la creación del Comité de Emergencia para la lucha contra el Cólera bajo decreto Nº 132/92. Dicha Comisión Nacional, consensuó criterios básicos sobre la patología, con los gobiernos provinciales y expertos de Instituciones científicas profesionales y universitarias de todo el país y del extranjero, en oportunidad de registrarse los primeros casos en el mes de febrero del año 1992 en nuestro territorio. Durante el año 1992, se notificaron en todo el país un total de 553 casos, lo que representa una tasa de incidencia de 1,7 por 100.000 habitantes. Las provincias más afectadas fueron Salta con una tasa de 51,1 por 100.000 habitantes y Jujuy con 15,3 por 100.000 habitantes. En el año 1993 se notificaron un total de 2.080 casos, con una tasa de incidencia de 6,5 por 100.000 habitantes y luego produjo una evidente disminución de los mismos hasta el año 1999 cuando se notificó un solo caso. El número de casos acumulados desde el año 1992 hasta el año 1999 cuando se notificó el último caso, es de 4.834 pacientes, con 83 pacientes fallecidos.

Escherichia coli Enterotoxigénica (ETEC): productora de dos toxinas una termoestable y la otra termolábil, esta última es la que copia el mecanismo de acción de la toxina colérica con quien comparte determinantes antigénicos que pueden dar reacciones cruzadas, ya que la estructura toxigénica es igual. Es el agente etiológico de un cuadro clínico denominado diarrea del viajero.

Clostridium perfringens: es un bacilo Gram positivo, anaerobio, formador de esporas, que se encuentra en el suelo y en el intestino de mamíferos y aves. Es agente etiológico de dos síndromes de toxiinfección alimentaria:
Clostridium perfringens tipo A produce, en países desarrollados, una enfermedad autolimitada que suele presentarse tras la ingesta de carnes o aves de consumo, que luego de cocinadas se mantienen a temperatura ambiente. En estas condiciones el Clostridium perfringens tipo A que no ha sido destruido por la cocción es ingerido con el alimento. Una vez en el intestino delgado, las formas vegetativas de la bacteria esporulan, produciendo la enterotoxina.
Clostridium perfringes tipo C puede, mediante una necrotoxina presente en carnes de cerdo semicruda, producir un cuadro clínico mucho más grave: la enteritis necrotizante. En condiciones normales esta necrotoxina es inactivada en el tracto digestivo mediante las proteasas intestinales. Sin embargo, la toxina puede ejercer su efecto en áreas tropicales poco desarrolladas y con déficit alimentario o cuando se consumen inhibidores de las proteasas como ocurre por la ingesta de batatas en Nueva Guinea (Oceanía).

Clostridium difficile: produce un cuadro de diarrea toxigénica denominado colitis pseudomembranosa,

pero no existe el antecedente de ingesta de alimentos. Es un bacilo Gram positivo anaerobio, esporulado, cuya epidemiologia y aspectos clínicos han cambiado significativamente durante la primera década del siglo XXI.

C. difficile forma parte de la microbiota residente del intestino del hombre y algunos animales. La tasa de colonización asintomática es más alta en la población pediátrica: 33% de los menores de 2 años sanos están colonizados en tracto intestinal. Luego como consecuencia del establecimiento de la microbiota en intestino delgado, el porcentaje desciende a 1-4% a los 3-4 años, semejante a las cifras que se encuentran en adultos. Se encuentra diseminado en el medio hospitalario. Sus esporas pueden sobrevivir a condiciones adversas de acidez y temperatura, a radiación ultravioleta, cambios osmóticos, desecación, carencia de nutrientes, y a la acción de antisépticos y desinfectantes. Dichas esporas pueden además vehiculizarse a través del agua, instrumental médico o fomites. Se transmite de persona a persona a través de las manos, y también se ha documentado la transmisión desde animales de compañía y alimentos.

La patogenicidad y virulencia de C. difficile resulta principalmente de la acción de una enterotoxina TcdA y una citotoxina TcdB. Éstas alteran la regulación de las uniones entre los enterocitos y la permeabilidad de la mucosa del colon. Existen además otros factores involucrados en su patogenicidad, tales como fimbrias, flagelos, capsula, una proteinas y una toxina iota.

C. difficile causa el 25-30% de las diarreas adquiridas en el medio hospitalario y el 15-25% de los casos asociados a tratamientos antimicrobianos. En las últimas décadas se han documentado casos de infección por esta bacteria adquiridos en la comunidad.

La infección por C. difficile puede producir un amplio espectro de manifestaciones clínicas que van desde episodios de diarrea leve y moderada hasta colitis pseudomembranosa y complicaciones graves (megacolon tóxico, íleo paralítico y perforación intestinal).

La infección se confirma por métodos microbiológicos, de tipo directo, basados en la detección de toxinas en muestras de materia fecal, siendo los más utilizados el Enzimoinmunoensayo (ELISA), Inmunocromatografia y RCP.

Staphylococcus aureus: es uno de los responsables más comunes de intoxicaciones alimentarias. La bacteria desarrolla en productos no refrigerados, como: carne, lácteos y mayonesa en donde libera sus toxinas. Las toxinas de la bacteria pueden encontrarse preformadas en el alimento ingerido. Producen un cuadro de diarrea explosiva y autolimitada.

Bacillus cereus: es un bacilo Gram positivo, esporulado, aeróbico. Causa cuadros de gastroenteritis debido a la producción de dos tipos de enterotoxinas: a) termolábil: cuadro diarreico luego de la ingesta de carne contaminada por esporas y b) termoestable: cuadro emético luego de la ingesta de arroz cocido o frito.

En las diarreas toxicogénicas la materia fecal es acuosa y el cuadro clínico no se acompaña de fiebre ni dolor abdominal conociéndose el cuadro con el nombre de síndrome coleriforme.

Diarreas invasivas

Fisiopatogenia: luego de ingresar con los alimentos o el agua y de acuerdo al inóculo bacteriano, los agentes etiológicos se adhieren al epitelio mucoso y una vez allí, logran ingresar al espacio intercelular y alojarse en los tejidos más profundos para acceder a los nutrientes para su desarrollo e inclusive evadir el sistema inmune.

En las mucosas, las células M funcionan como un puente entre el agente infeccioso y las células del sistema inmune.

El sistema inmune asociado a mucosas opera en las superficies en contacto con el medio externo como una red asociada al tracto gastrointestinal, respiratorio y genital; así como en conjuntiva, oído medio y conductos de glándulas mamarias. En estas superficies externas se localizan las células M las que poseen una forma e importancia particulares. Ubicadas en la mucosa, por su parte apical están en contacto con la luz del órgano, y por su parte basal poseen una superficie con invaginaciones que forman como “bolsillos” en donde se ubican diferentes células del sistema inmune tales como linfocitos B, linfocitos T, macrófagos y células dendríticas. En estas células ingresan antígenos, presentes en el lumen del órgano, que por un mecanismo de transcitosis (simple tránsito celular) atraviesan estas células en vesículas endocíticas para ser liberados en estos “bolsillos” ocupados por las células del sistema inmune. De este modo estas células representan un momento clave para el desarrollo de la respuesta inmune en las mucosas pero también son el primer tramo del camino por el cual diversos virus y bacterias (Reovirus, Rotavirus, Poliovirus, Salmonella spp., Escherichia coli Enteroinvasiva) atraviesan la barrera mucosa del huésped.

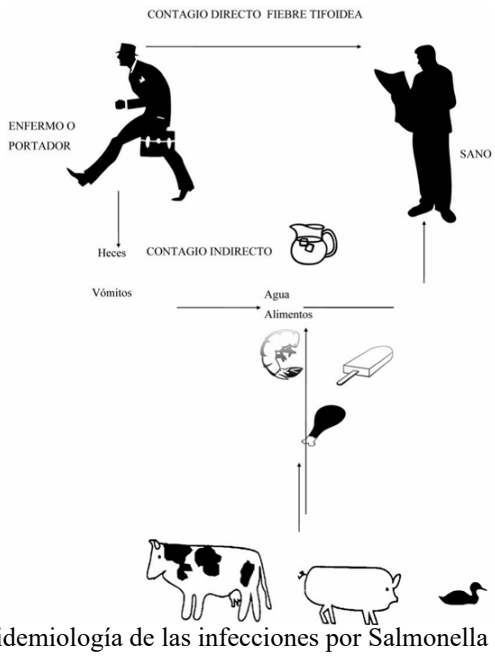
Es decir las células M son puente entre el antígeno y las células presentadoras de antígenos.
Por lo tanto, la capacidad invasora es un verdadero factor de virulencia para estos microorganismos.
Otras bacterias no sólo invaden el epitelio superficial sino que llegan a los vasos san-guíneos causando una diseminación sistémica, por lo que también se los puede encon-trar en el torrente sanguíneo. Agentes que actúan por este mecanismo son:

· E. coli Enteroinvasiva (EIEC)
· Salmonella spp.
· Shigella spp.
· Yersinia enterocolítica
· Campylobacter jejuni.

Escherichia coli Enteroinvasiva (EIEC): es uno de los 5 virutipos de Escherichia coli. La fisiopatogenia aún no se ha dilucidado. Los estudios de la cepa sugieren que los mecanismos por los que produce diarrea son semejantes a los de las especies de Shigella.

Salmonella spp.: ha sido aislada del hombre y de la mayoría de los animales. Algunos serotipos del género Salmonella son, sin embargo, especie específicos.
El humano es el único reservorio natural de Salmonella typhi, Salmonella parathypi A, B y C. Estos son los agentes etiológicos de la fiebre tifoidea. Una entidad clínica diferente a las diarreas provocadas por otras especies del género. La fiebre tifoidea se caracteriza por un síndrome febril prolongado. Si bien la bacteria ingresa con el agua o los alimentos (frutas y verduras) lavados o regados con aguas contaminadas, no hace su primera estación en el tracto gastrointestinal ya que tiene la capacidad de atravesar mucosa, submucosa y lámina propia y llegar a los vasos sanguíneos desde donde se disemina a ciertos órganos como el bazo. Esta bacteria produce en un primer estadio una bacteriemia y debe ser investigada en muestras de sangre (hemocultivos). En una segunda fase el agente vuelve al tracto digestivo, muchas veces pudiendo quedar acantonada en los conductos biliares (estado de portación).
Los otros serotipos cruzan las especies y están asociados a muy diversos cuadros clí-nicos y son los responsables de la diarrea aguda (entidad clínica conocida como salmonelosis): Salmonella cholerae-suis, Salmonella typhimurium, Salmonella enteritidis, y Salmonella heidelberg. La especie más frecuente en nuestro país es Salmonella enteritidis. Aquí hay que investigar la ingesta de leche o sus derivados y de huevos.

La historia nos cuenta: María "la tifosa"
La historia de Mary Mallon, también conocida como "María, la tifosa" es ya un clásico de la Epidemiología. Esta mujer tuvo fiebre tifoidea en 1901. Poco después, un amigo de la casa donde ella era cocinera, contrajo la enfermedad y un mes más tarde la lavandera de la familia también enfermó de tifoidea. En 1902, María se empleó en otra casa; pocas semanas después enfermaron la lavandera de la familia y 7 miembros de la casa. En 1904 se mudó de ocupación; 3 semanas después de su llegada a la nueva casa, aparecieron 4 enfermos de tifoidea. En 1907, llegó a servir a una familia de Nueva York y dos meses después se presentaron dos casos de tifoidea. Fue prácticamente hecha prisionera por el Departamento de Salud de los Estados Unidos y durante 3 años los coprocultivos fueron sistemáticamente positivos. Luego María se perdió de la observación hasta el año 1914, en que entró de cocinera a un Hospital de mujeres de Nueva York. En este hospital, en enero y febrero de 1915, se presentó un brote epidémico de tifoidea con un total de 25 casos; la cocinera huyó.
Finalmente, estudios posteriores, señalaron a esta portadora como causante de una epidemia de origen hídrico de fiebre tifoidea ocurrido en 1903 en Ithaca, Estado de Nueva York, con un total de 1.300 casos.



Epidemiología de las infecciones por Salmonella spp.

Shigella spp.: Bacilo Gram negativo de la familia Enterobacteriaceae. Se encuentra principalmente en

el hombre (reservorio) y no se disemina en la naturaleza. El microorganismo es capaz de resistir la acidez gástrica, por lo tanto un pequeño inóculo puede causar enfermedad, cuando ingresa por vía digestiva.
En base al antígeno O (somático) del LPS de la pared celular el género Shigella se divide en serogrupos: OA, OB, OC y OD. Cada uno de estos serogrupos se corresponde bioquímicamente con los siguientes biotipos: S. disenteriae, S. flexneri, S. boydii, S. sonnei, respectivamente.
El cuadro clínico va desde una diarrea invasiva leve a un cuadro más severo conocido con el nombre de disentería bacilar con compromiso general y síntomas neurológicos.
Las cepas de Shigella producen una citotoxina (Toxina de Shiga) capaz de producir estos cuadros tóxicos además del desprendimiento del epitelio intestinal.
Yersinia enterocolitica: produce una zoonosis llamada yersiniosis. El hombre se infecta de forma accidental. La bacteria penetra con el alimento, invade la mucosa íleocecal, produciendo úlceras en la misma posiblemente por la acción de la endotoxina (lípido A) pudiendo llevar a la linfadenitis mesentérica purulenta.

Campylobacter jejuni: es un bacilo Gram negativo, habitante microaerófilo del tracto gastrointestinal de muchos animales, entre ellos aves, perros, gatos, ovejas y ganado vacuno. A diferencia de otros agentes de gastroenteritis como Salmonella spp., Campylobacter jejuni no se multiplica en el alimento.
Las diarreas invasivas se caracterizan por presentar heces muco-pio-sanguinolentas, la reacción inflamatoria es característica; acompañada de fiebre y compromiso general del paciente: náuseas, vómitos, dolores abdominales (aumento del peristaltismo y de los rui-dos hidroaéreos) conociéndose este cuadro con el nombre de síndrome disenteriforme.

Características	Diarreas Toxigénicas (no inflamatoria)	Diarreas Invasivas (inflamatoria)
Leucocitos fecales	Ausentes (< 20 PMN/cpo.)	Presentes (> 20 PMN/cpo.)
Fisiopatología	Sin daño del epitelio intestinal el trastorno es funcional, pro- vocado por enterotoxinas	Inflamación y lesión de la mu-co-sa. Los gér-menes invaden la mucosa o la dañan por producción de citotoxinas
Etiología	Vibrio cholerae, E.coli Enterotoxigénica, S. aureus, C. perfringens, Cryptosporidium spp., Giardia lamblia, Isospora belli, Bacillus cereus, Clostridium difficile	Shigella spp., Salmonella spp, Campylobacter jejuni, Yersinia enterocolitica, Escherichia coli Enteroinvasiva, Entamoeba his-tolytica.
Clínica	SINDROME COLERIFORME Diarrea acuosa abundante, poco dolor abdominal, deshidratación. No fiebre.	SINDROME DISENTERIFORME Diarrea de poco volumen con mucus y sangre, dolor abdominal, tenesmo.

Diarreas mixtas
En este grupo se colocan aquellos agentes cuyo mecanismo de acción es mixto, es decir las bacterias se adhieren, invaden y producen toxinas; no predominando un factor de virulencia específico sobre el otro o dependiendo del huésped comprometido. Son tres los agentes más estudiados y corresponde a tres de los 5 virutipos de Escherichia coli: Escherichia coli Enterohemorrágica (EHEC), Escherichia coli Enteropatógena (EPEC) y Escherichia coli Enteroadherente (EAEC).

Diarreas por adherencia y producción de citotoxinas:
Escherichia coli Enterohemorrágica (EHEC): la gastroenteritis ha sido observada en adultos luego de la ingestión de hamburguesas comerciales, niños en guarderías y ancianos. Esta variedad de E. coli corresponde al serotipo O157 H7.
Las bacterias se adhieren a la mucosa del colon mediante fimbrias y liberan una citotoxina termolábil codificada por fagos, sin invadir la mucosa intestinal. Esta toxina se denomina Verotoxina, por sus efectos en las líneas celulares de cultivo Vero.
La manifestación clínica más habitual es la colitis hemorrágica (diarrea sanguinolenta en pacientes sin fiebre y sin leucocitos) que puede complicarse en niños y ancianos con un síndrome urémico hemolítico y con púrpura trombótica trombocitopénica, por la acción de la toxina.

Síndrome Urémico Hemolítico
El Síndrome Urémico Hemolítico es la causa más común de insuficiencia renal aguda y de hipertensión arterial en los lactantes y niños pequeños y la segunda causa de insuficiencia renal crónica en ese grupo

etario, siendo causante del 20% de los trasplantes renales en niños y adolescentes. Argentina es el país donde se diagnostica la mayor cantidad de casos en todo el mundo (alrededor de 400 nuevos casos cada año). Generalmente afecta a niños eutróficos, con una edad promedio cercana a los 20 meses y sin predominio por sexo. Clínicamente se inicia como una diarrea leve acuosa que luego se vuelve sanguinolenta.
Dado que se caracteriza por presentar anemia hemolítica, plaquetopenia y daño renal, los niños pueden presentar palidez, irritabilidad, vómitos, convulsiones y oliguria. Hasta en un 90% de los casos, se produce en forma secundaria a una infección gastrointestinal por cepas de Escherichia coli O157:H7 productoras de toxinas Shiga, que generalmente se produce tras la ingestión de alimentos contaminados con dicha bacteria. Si bien los casos pueden ocurrir durante todo el año, predominan en los meses cálidos. Las vías de transmisión son la carne mal cocida y el jugo de carne cruda, la leche y jugos envasados no pasteurizados, las aguas contaminadas y las manos, superficies y utensilios mal higienizados. En países industrializados presenta una modalidad epidémica, con una tasa de incidencia de aproximadamente 1 a 3 casos cada 100.000 niños menores de 5 años, y en países menos desarrollados es endemo-epidémica con una tasa de incidencia mayor. En la etapa aguda, la mortalidad es de entre el 2 al 5% de los afectados.

Diarreas por destrucción de la función celular
En este tipo de diarrea el microorganismo altera y destruye la función de las células de la mucosa intestinal, por adherencia a la superficie, atrofia del ribete en cepillo y daño intracelular de la mucosa intestinal. Este es el mecanismo de acción de la Escherichia coli Enteropatógena (EPEC).

Escherichia coli Enteropatógena (EPEC): en un comienzo se adhiere al colon y al intestino delgado y luego invade a las células intestinales en su vértice, destruyendo las microvellosidades (ribete en cepillo) de los enterocitos (mecanismo conocido con el nombre de esfacelo). La adherencia y el esfacelo están codificados en el genoma de esta bacteria. Produce diarreas en lactantes, especialmente en aquellos hospitalizados en centros urbanos grandes.

Diarreas asociadas con adherencia al epitelio
Ciertos microorganismos se adhieren a la mucosa intestinal, impidiendo así las funciones normales de absorción y secreción. Ejemplo de este mecanismo es Escherichia coli Enteroadherente o Enteroagregante o Agregativa (EAEC).

Escherichia coli Enteroadherente o Enteroagregante o Enteroagregativa (EAEC): se une a las células del intestino delgado por medio de fimbrias codificadas por plás-midos de alto peso molecular, lo que forma grupos pequeños de bacterias en la superficie celular. Este mismo plásmido codifica una enterotoxina termoestable y una citoto-xina. La acción de estas toxinas es secundaria al mecanismo fisiopatogénico de este enteropatógeno que produce un síndrome de mala absorción.

Síndromes neurológicos por ingesta de alimentos
Botulismo
El botulismo es una enfermedad producida por la toxina liberada por el Clostridium botulinum, bacilo Gram positivo, anaerobio, esporulado. Una vez que la toxina ha ingresado con el alimento (toxina preformada), se absorbe a nivel intestinal, pasa a sangre e impide la liberación de acetilcolina en las terminaciones de los nervios colinérgicos, provocando parálisis flácida en el paciente. Existen tres formas de botulismo:

a. Botulismo alimentario: producido por la ingesta de la toxina preformada en alimentos con pH alcalino como: conservas de vegetales caseras, palmitos, embutidos caseros, etc. La mayor parte de los casos de botulismo corresponden a esta entidad. La toxina se puede encontrar en el alimento (si consiguiéramos el mismo) o en algunos casos en los vómitos del paciente.
b. Botulismo de las heridas: producido por la germinación de la espora del microorganismo en el ambiente anaeróbico d de las heridas.
c. Botulismo neonatal: es una infección debido a la colonización intestinal por Clostridium botulinum y a la producción ulterior de la toxina. Es probable que la flora del intestino del adulto impida la colonización con esta bacteria, mientras que en el intestino del lactante es capaz de multiplicarse y producir toxinas. El botulismo infantil está asociado a la alimentación con miel y jarabe de maíz, por lo que se recomienda no alimentar a los lactantes menores de 9 meses con estos productos.
En la actualidad la toxina botulínica es utilizada en

la cosmiatría y cosmetología como en la medicina estética para el tratamiento de las arrugas por envejecimiento.

Diagnóstico microbiológico de las diarreas infecciosas agudas y de las toxiinfecciones alimentarias de origen bacteriano

Basados en los pilares clínicos y epidemiológicos redactados previamente se debe ini-ciar el diagnóstico bacteriológico. Ninguno de los pasos del mismo deben ser obviados para llegar al agente etiológico:

1. Toma de la muestra: la muestra es la materia fecal. Ésta deberá tomarse prefe-rentemente por emisión espontánea recogida con una espátula estéril por el propio paciente y trasvasada a un frasco estéril de boca ancha. En su defecto se preconiza tomar directamente con un hisopo de las porciones más mucosas de la materia fecal y colocarla en un tubo de ensayo estéril. Otro método es mediante el hisopado rectal.

La muestra debe ir acompañada siempre con el protocolo que debe indicar todos los datos clínicos y epidemiológicos como también la sospecha diagnóstica y el pedido de investigación de diarrea toxigénica o invasiva. Esto facilitará la metodología a implementar, al momento del procesamiento de la muestra clínica.

2. Envío, transporte y conservación de la muestra: la muestra de materia fecal debe ser procesada inmediatamente. De no ser así podrá enviarse al laboratorio en medios de transporte (Cary-Blair o agua peptonada alcalina: esta última para Vibrio cholerae). En estos medios la viabilidad del agente se puede mantener hasta 4 semanas.

La muestra de materia fecal no puede refrigerarse y debe ser enviada siempre a temperatura ambiente.

3. Procesamiento de la muestra en el laboratorio:

a) Examen directo: el examen directo se realiza colocando una gota de la muestra con una gota de azul de metileno entre portaobjetos y cubreobjetos. Este método se denomina examen en fresco y sirve para detectar leucocitos polimorfonucleares fecales. La presencia de más de 20 leucocitos PMN por campo de 40x orientan hacia una diarrea invasiva (inflamatoria) en personas adultas y la presencia de más de 5 PMN por campo de 40x orienta a una diarrea invasiva en niños. Muchas veces pueden observarse glóbulos rojos. Cifras inferiores a estos puntos de corte nos ponen en presencia de una diarrea de origen toxicogénico. En ciertos agentes se puede ver la motilidad del mismo. Esto ocurre a veces con Vibrio cholerae que se lo ve pasar en el fresco ante los ojos como si estuviese haciendo "vueltas carnero".

La coloración de Gram no es útil para el diagnóstico de infecciones gastrointestinales ya sea porque buscaremos toxinas o porque los agentes enteropatógenos presentes

en las heces guardan características morfológicas y tintoriales semejantes a los microorganismos que constituyen la flora bacteriana normal del intestino.

Podría visualizarse la presencia de una bacteria como lo es Campylobacter jejuni por sus características morfológicas diferentes. Se utiliza con mejores resultados la técnica de coloración con carbol-fucsina que permite ver la típica forma de alas de gaviota de este agente.

b) Cultivo: está indicado sólo para bacterias que podrían encontrarse en la materia fecal. Es decir aquellos microorganismos que están presentes al momento de producirse la entidad clínica. Es imposible aislar un microorganismo de materia fecal si lo que está produciendo la diarrea es la toxina.

Los agentes etiológicos de diarreas invasivas (Salmonella, Shigella, Yersinia, EIEC, Campylobacter) y Vibrio cholerae (agente etiológico de diarrea toxicogénica) se pueden investigar mediante el cultivo.

El cultivo se realiza en dos partes:

· Medios de enriquecimiento: los medios de enriquecimiento son medios líquidos (caldos) que poseen entre sus componentes sustancias inhibidoras de la flora bacteriana normal y nutrientes que faciliten el desarrollo de bacterias enteropatógenas. Esto permite que el número de bacterias de la microbiota normal disminuya y por el contrario las bacterias patógenas aumenten su inóculo en la muestra. Los medios más usados son medio de Selenito F y caldo tetrationado para Salmonella spp. y Shigella spp. y medio de agua peptonada alcalina para Vibrio cholerae.

Se inoculan estos medios con una porción de la muestra y se dejan en estufa a 35- 37ºC durante 6 a 12 horas.

· Medios selectivos: favorecido el desarrollo de los agentes a investigar en los medios de enriquecimiento, se procede a pasar una alícuota de estos medios a medios sólidos selectivos. Entre los más usados se encuentran el agar Salmonella-Shigella (SS), el

medio de Mac Conkey y el medio de agar cisterna-tiosulfato-sales biliares para Vibrio cholerae (TCBS). Muchas veces se pueden buscar estos microorganismos en los alimentos ingeridos si se pudiera contar con ellos.

c) Identificación del agente: la identificación del género y la especie de la bacteria se realiza con pruebas bioquímicas e inmunológicas que tienen como objeto primordial dar un informe completo de laboratorio a los fines terapéuticos y epidemiológicos.

Las pruebas bioquímicas se basan en la capacidad que tienen las bacterias en utilizar sustancias como base para su metabolismo o poner de manifiesto características estructurales. Un ejemplo típico de prueba diferencial es la movilidad. Colocando a

Salmonella o a Shigella en un medio semisólido podríamos identificarlas claramente ya que la primera es móvil y la segunda no lo es.

Las pruebas inmunológicas consisten en la detección de antígenos de superficie de las bacterias como lo es la detección de los antígenos O, H o K de algunas bacterias Gram negativas. Esto permite, por ejemplo, clasificar a las cepas de Vibrio spp. en O1 y no O1, importante diferencia puesto que los serogrupos O1 son los únicos productores de cólera.

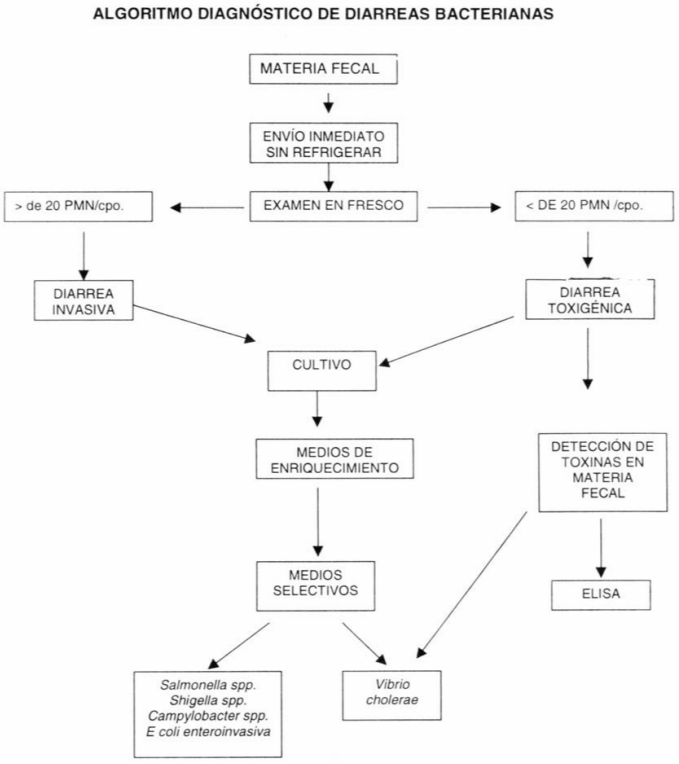
d) Pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos: se realiza especialmente antibiogra¬ma por difusión y está indicado para cepas de Salmonella spp y Shigella spp., especialmente por su resistencia a ATM utilizados en el tratamiento de las diarreas y los mecanismos de resistencia que frente a ellos estas bacterias han generado.

e) Detección de toxinas: la búsqueda de antígenos o subunidades estructurales es otra metodología directa a ser empleada. En el caso de diarreas toxicogénicas es factible buscar la toxina tanto en los alimentos como en las heces. Esto es así porque muchas veces la bacteria que produce la toxina ha muerto y no es posible recuperarla. La detección de toxinas es un método rápido (a veces obtenemos resultados a las 6 horas) y debe realizarse con métodos de enzimoinmunoensayo (ELISA) o contrainmunoelectroforesis (CIE).

f) Otras técnicas diagnósticas: es importante que frente a la sospecha de diarreas de origen bacteriano cuyo mecanismo de acción sea invasivo se realicen técnicas de hemocultivo. La salmonela es un agente que atraviesa fácilmente la lámina propia llegando a invadir el torrente circulatorio.

En la fiebre tifoidea y durante las tres primeras semanas de la enfermedad el diagnóstico se realiza a través de muestras de sangre (hemocultivos). Más allá se debe bus car la bacteria en materia fecal (coprocultivo) u orina (urocultivo).

4. Interpretación de los resultados: el aislamiento de una bacteria que no pertenez ca a la microbiota normal del hombre acompañado de signos y síntomas de trastorno gastrointestinal confirma el diagnóstico. La presencia de toxinas en heces o en los alimentos también es un elemento sumamente importante para el diagnóstico de diarreas bacterianas.



Diarreas Virales: Virus productores de diarrea

Agentes infecciosos

Los virus productores de diarrea son un grupo heterogéneo de virus, que difieren en morfología, estructura, tamaño, genoma viral y estrategia replicativa, por lo que están clasificados en diferentes familias virales (Tabla 1).

CLASIFICACION		EPIDEMIOLOGIA	
FAMILIA	VIRUS	ESCENARIO ENDÉMICO	ESCENARIO EPIDÉMICO
Reoviridae	Rotavirus Grupo A	Distribución mundial. Causa diarrea severa en niños menores de 3 años de edad.	Brotes en guarderias.

Reoviridae	Rotavirus Grupo B		Brotes de diarrea severa en mayores de 15 años de edad, solo en China
Reoviridae	Rotavirus Grupo C	Casos esporádicos	Brotes en niños y adultos
Astroviridae	Astrovirus	Diarrea leve en niños menores	Brotes en guarderías.
Adenoviridae	Ad serotipos 40/41	Diarrea severa en niños	
Caliciviridae	Norovirus	Diarrea en niños	Principal etiología de brotesno-bacterianos de origen alimentario en población general.

Epidemiología

Es posible asignar a las diarreas virales dos escenarios epidemiológicos diferentes, uno endémico (la enfermedad se presenta con regularidad predecible) y otro epidémico (el número de casos supera lo esperado para esa área geográfica, en un corto período de tiempo), según el mayor impacto en salud de los virus en uno y otro escenario. Sin embargo, hay que tener en cuenta que virus del escenario endémico también transitan el escenario epidémico, cuando las condiciones del ambiente y del huésped generan situaciones que favorecen que la infección viral se instale y se propague (Tabla 1).

En el escenario endémico transcurre la diarrea viral de la infancia, que afecta a niños menores de 5 años de edad. En general la infección primaria es sintomática y su transmisión es por gotitas de saliva y/o por vía fecal-oral. La incidencia de la enfermedad declina con el aumento de la edad del huésped y la tasa de reinfecciones sintomáticas es baja, hechos que sugieren que la infección primaria genera inmunidad específica.

La infección por Rotavirus grupo A es la causa más frecuente de diarrea severa en niños menores de 5 años de edad en todo el mundo y se estima que es responsable de la etiología infecciosa en el 40 al 80% de los casos de diarrea viral grave.

Probablemente, los segundos agentes etiológicos en importancia sean los Norovirus, también denominados “Norwalk like virus”, Calicivirus o “small round structured virus”. Se estima que su frecuencia en la diarrea aguda está subestimada, debido a la elevada variabilidad antigénica de este grupo de virus que hace que algunas variantes no sean detectadas con los ensayos utilizados.

Los Astrovirus emergieron como agentes de gastroenteritis aguda hace aproximadamente 12 años, como consecuencia del desarrollo de métodos diagnósticos. Los estudios epidemiológicos realizados en distintas partes del mundo coinciden que este virus está asociado a cuadros de diarrea leve

Los Adenovirus serotipos 40 y 41 son responsables de una enfermedad diarreica de severidad comparable a los Rotavirus grupo A; sin embargo su frecuencia en la diarrea grave es baja (2-6%).

En el escenario epidémico están involucrados principalmente el grupo de los Norovirus, responsables del 80-90% de los brotes no bacterianos de diarrea de origen alimentario. La transmisión está íntimamente relacionada al consumo de alimentos y aguas contaminadas, lo que hace que los brotes por Norovirus involucren a individuos de diferentes grupos etarios.

Los Rotavirus grupo B son también virus identificados como epidémicos, que producen brotes de diarrea en población adulta ,solamente en China. La mayor tasa de infección se registra en mayores de 30 años de edad.

Por último, los Rotavirus grupo A son también responsables de brotes, cuando la infección se instala en núcleos cerrados y altamente susceptibles, como es el caso de guarderías infantiles.

Patogénesis de la infección por Rotavirus

Los Rotavirus replican en el tracto gastrointestinal sólo en enterocitos maduros y los cambios histopatológicos se limitan exclusivamente al intestino delgado, pudiéndose observar acortamiento de las vellosidades intestinales, infiltrado de células mononucleadas en la lámina propia y elongación de las criptas. Funcionalmente, hay mala absorción de d-xylosa, motilidad gástrica anormal y niveles disminuidos de disacaridasas.

También contribuye a la mala absorción intestinal una proteína de los rotavirus (proteina NSP4) que induce en las células intestinales la movilización del calcio intracelular y la secreción de cloruros, además de reducir la absorción de glucosa.

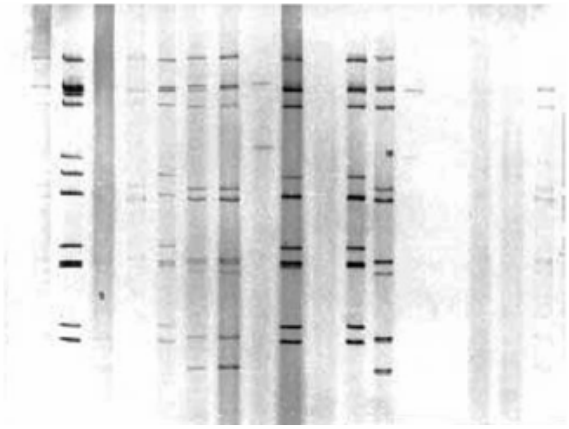
De este modo, la diarrea producida por Rotavirus es multifactorial, participando el daño y alteración de la función celular generada por la replicación viral y el desequilibrio electrolítico celular inducido por la proteína no estructural NSP4.

Diagnostico microbiológico

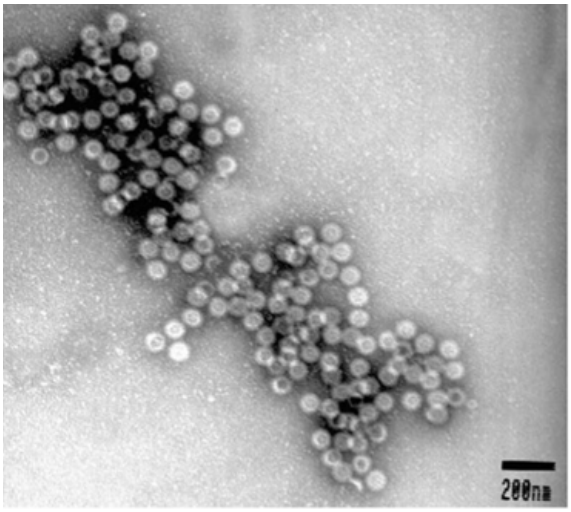
El diagnóstico de las infecciones víricas intestinales se basa en métodos directos, consistentes en la detección en la muestra de heces del paciente de partículas víricas, antígenos o ácidos nucleicos del virus implicado en la etiología del cuadro de gastroenteritis. Los métodos serológicos tienen utilidad en estudios de seroprevalencia o de análisis de la respuesta inmunitaria, como en el estudio de seroconversión en niños vacunados frente a rotavirus.

Se utilizan los métodos directos, esto es, la detección del agente completo por microscopía electrónica o sus partes (proteínas y ácido nucleico). La detección de proteínas virales se realiza por ensayos inmuno enzimáticos (ELISA) y del ácido nucleico por RCP.

En el caso particular de los rotavirus, que tienen un genoma segmentado en 11 fracciones, el diagnóstico se realiza por electroforesis en geles de poliacrilamida, que revela los 11 segmentos con un "electroferotipo" característico.



Electroforesis en gel de poliacrilamida, se observan los diferentes electroferotipos de Rotavirus sembrados en un gel.



La fotografía corresponde a una microscopía electrónica de partículas virales compatibles con Rotavirus en un niño con diarrea.

Las técnicas moleculares de transcripción inversa seguida de RCP convencional (RT-PCR) se han generalizado como métodos de detección de Rotavirus en heces, en otras muestras clínicas (suero, LCR) y en muestras ambientales. El diagnóstico de las infecciones por Norovirus se realiza principalmente por RT-PCR, que se considera actualmente el método de referencia.

Tratamiento de las diarreas

Como regla general, los pacientes que son atendidos en el primer nivel de atención no deben recibir antibióticos, y el uso de los mismos queda restringido a aquellos pacientes que requieran internación por presentar cuadros disentéricos o cólera.

El único tratamiento para las diarreas bacterianas y virales es el de soporte, esto es, la reposición del líquido y los electrolitos perdidos para evitar la deshidratación del paciente. "Reponer los líquidos perdidos" ha sido durante siglos el tratamiento habitual para la diarrea en muchas culturas del mundo. Desde entonces se han utilizado empíricamente en el mundo bebidas saladas y/o azucaradas, infusiones de hierbas varias y formulaciones diferentes para sopas y caldos. Hacia finales de los años `70 las prácticas antiguas encontraron sustento científico con el descubrimiento de que en el intestino delgado, el transporte de sodio y de glucosa son dependientes, de manera que la glucosa acelera la absorción de agua y electrolitos. Este fue quizás el avance médico más importante del siglo XX, ya que a partir de él, se formularon las sales de rehidratación oral. La solución estándar de sales de rehi-dratación oral contiene 3,5 g de cloruro de sodio, 2,5 g de bicarbonato de sodio, 1,5 g de cloruro de potasio y 20 g de glucosa, disueltos en 1 litro de agua. En la actualidad se considera que la terapia de rehidratación oral es el pilar del tratamiento de la diarrea aguda.

No se deben usar antibióticos de rutina en una enfermedad diarreica aguda, porque:

- Es una enfermedad autolimitada.
- La causa más frecuente es la viral.
- El tratamiento empírico facilita la aparición de gérmenes resistentes.
- Hay importantes evidencias de que la utilización de antibióticos en diarrea por E. coli (productor de toxi-

na Shiga) y Shigella disenteriae tipo 1, se asocian con mayor frecuencia de Sindrome Urémico Hemolítico.
El tratamiento con ATM está limitado a aquellos casos donde la diarrea sea invasiva y en los casos severos de cólera. En los últimos años han surgido cepas resistentes a los antimicrobianos más usados. El género Shigella es un ejemplo de ello. Como las especies de Shigella y su resistencia varían según la localización geográfica, cobra gran importancia el control y seguimiento de los patrones de resistencia para la selección del tratamiento empírico adecuado.
El hallazgo de aislamientos productores de betalactamasas de espectro extendido o con sensibilidad reducida a las quinolonas fluoradas debe alertar acerca de la emergencia de este tipo de patógenos.
Como resultado de lo expuesto puede enfatizarse el hecho de que se deben poner en marcha actividades de vigilancia orientadas a detectar y controlar la aparición de nuevas cepas resistentes, a la vez que el estudio de la relación clonal entre los diferentes aislamientos mediante la aplicación de técnicas de tipificación epidemiológica puede ayudar a conocer con mayor precisión la distribución y evolución de las cepas resistentes circulantes en cada región.

Prevención

Además de las medidas de control de infecciones, saneamiento ambiental, provisión de agua potable, adecuada eliminación de las excretas, lavado de manos, lactancia materna; que son las de mayor impacto para evitar brotes de gastroenteritis o para propender a su rápida contención, se cuenta, con una herramienta más a considerar, que son las vacunas.
Los agentes etiológicos que producen gastroenteritis y para los que se han elaborado vacunas son: Rotavirus y Vibrio cholerae.
Hay dos vacunas orales (se beben) contra el rotavirus: Rotarix® y RotaTeq®. La vacunación completa se consigue con 2 dosis de Rotarix® o con 3 dosis de RotaTeq®.
Cada dosis debe separarse de la siguiente, al menos, 1 mes. La primera dosis se puede administrar desde las 6 semanas de edad y no más tarde de las 12 semanas (días antes de cumplir 3 meses), pudiendo hacerse coincidir con las vacunaciones de calendario de los 2 y 4 meses, en el caso del Rotarix® , y 2, 4 y 6 meses si se emplea RotaTeq® . La última dosis ha de recibirse antes de las 24 semanas de vida para Rotarix® y antes de las 32 para RotaTeq® .
Está comprobado que es una vacuna segura y sin apenas efectos secundarios. Los más frecuentes son vómitos, diarrea y fiebre moderada, todos ellos leves. Se han comunicado casos aislados de broncoespasmo, urticaria y de invaginación intestinal tras la administración de esta vacuna. Esta última situación es más probable en la semana que sigue a la primera dosis y puede tener, como síntomas, dolor abdominal intenso intermitente, vómitos y heces con sangre. Este cuadro deberá ser valorado de forma urgente por un médico.
En los últimos años se han licenciado vacunas anticoléricas más modernas que, además de un superior perfil de inmunogenicidad, tienen un costo accesible y son administradas por vía oral, lo que ha motivado su reevaluación en situaciones epidémicas como la que está sucediendo en Haití y República Dominicana. Nuestro país implementará estrategias de inmunización racionales y basadas en la evidencia, en función de todas las herramientas disponibles, la situación epidemiológica tanto mundial como de nuestro país y los objetivos planteados en consenso con expertos.
Hay vacunas anticoléricas parenterales y orales. Las vacunas parenterales no son utilizadas actualmente por una serie de razones que se enumeran a continuación: Estudios efectuados en la década de 1960 en Bangladesh, India, Filipinas e Indonesia, mostraron que tienen una eficacia de aproximadamente 50% y que la inmunidad solo duraba 6 meses, en promedio. Algunas vacunas de este tipo se asociaban con mayor inmunogenicidad, pero a cambio de esto, eran más reactogénicas. Por la corta duración de su inmunogenicidad requerían inoculaciones frecuentes, lo que las hacía poco atractivas a largo plazo, en caso de que el riesgo de exposición fuera persistente.
Las vacunas orales fueron desarrollados en la década de 1980 y demuestran avances sobre las vacunas parenterales: mayor inmunogenicidad (por lo tanto, mayor duración de la eficacia) y cómoda aplicación. Dos están elaboradas con bacterias muertas y la tercera, con cepas atenuadas (no disponible en el mercado en la actualidad.

Hepatitis Virales

Los agentes etiológicos de las hepatitis virales son el Virus de la Hepatitis A, el Virus de la Hepatitis B, el Virus de la Hepatitis C, el Virus de la Hepatitis D, el Virus de la Hepatitis E, y más recientemente el Virus de la Hepatitis G. Estos agentes virales, muy diferentes entre sí, tienen como órgano blanco el hepatocito,

	Hepatitis A	Hepatitis B	Hepatitis C	Hepatitis D	Hepatitis E
Familia viral	Picornaviridae	Hepadnaviridae	Flaviviridae	Agentes subvirales	Caliciviridae
Transmisión	Fecal-oral	Parenteral, Sexual, perinatal	Parenteral, Sexual	Parenteral	Fecal-oral
Diagnóstico*	IgM	HbsAg	IgM	IgM	IgM
Portador	No	Sí (5-10%)	Sí (50%)	Sí (50%)	No
Hepatitis crónica, cirrosis	No	1-5%	20 %	50%	No
Cáncer hepático	No	Sí	Sí	No	No

* Ver los diferentes marcadores virales, su utilidad en el diagnóstico.

produciendo una enfermedad clínicamente indistinguible que varía únicamente en la evolución.

La hepatitis es una característica de muchos síndromes clínicos producidos por otros agentes virales que no tienen como blanco primario la célula hepática pero que pueden infectarla luego de una fase virémica. En este último grupo se encuentran los virus de la Familia Herpesviridae (virus Herpes Simplex tipo 1 y tipo 2, virus Epstein Barr, Citomegalovirus), los virus productores de fiebres hemorrágicas (fiebre amarilla, Lassa, Marburg, Ébola) y, en algunas situaciones especiales, los Virus Sarampión, Rubéola y Varicela-Zoster.

El virus de la hepatitis G fue aislado recientemente. Pertenece a la Familia Flaviviridae y tiene una considerable homología con el virus de la hepatitis C, con quien comparte el mismo Género Hepacivirus. Su principal modo de transmisión sería el parenteral, infectando persistentemente su huésped. En numerosas situaciones coinfecta con el virus de la hepatitis C.

Bibliografía

- Álvarez Martínez M y col. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Diagnóstico microbiológico de las Infecciones Gastrointestinales. 2008. ISBN-978-84-612-7852-7.
- de Kruif, P. 1938. Los Cazadores de Microbios. Ed. Claridad. 1ra. Edición. Buenos Aires, República Argentina.
- Forbes, B., Sahm, D. et al. 2009. Bailey & Scott Diagnóstico Microbiológico. Ed. Panamericana. 12va. Edición. Buenos Aires, República Argentina.
- Gárcia Márquez G. El amor en los tiempos del cólera. 1985. Penguin Ed.
- Gil Sánchez J. Control de Calidad SEIMC. Toxiinfecciones Alimentarias. Páginas 1-13
- Littvik A y col. 2015. Tras las Huellas de un Mundo Invisible. Sima Editora, 5ª Ed. Córdoba, República Argentina.
- Ministerio de Salud de la Nación. Guía para el equipo de salud Nro 8 (2da. edición) ISSN 1852-1819 / ISSN 1852-219X (en línea) 2015.
- Murray P, Kobayashi G, Pfaller M, Rosenthal K. 2006. Microbiología Médica. Ed. Mosby (Elsevier Science). 5ª Ed. Amsterdan.
- Romero Cabello R. 2007. Microbiología y Parasitología Humana. Editorial Panamericana, 3º Ed. México.
- Soc. Esp. de Enf. Infec. y Microbiol. 2006. Clín. Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Madrid, España. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Ed. Panamericana. © 2006 EAN: 9788479039219
- Tortora, G. et al. Introducción a la Microbiología. 2017. Editorial Panamericana, 12ª Ed. CABA. Argentina.

Capítulo 20
Bacteriemias

Mi cuarta septicemia (Memorias de un estreptococo)
Revista Caras y Caretas. 1906.

Tuvimos que esperar más de dos meses. Nuestro hombre tenía una ridícula prolijidad aséptica que contrastaba cruelmente con nuestra decisión.
¡Eduardo Foxterrier! ¡Qué nombre!
Esto fue causa de la vaga consideración que se le tuvo un momento. Nuestro sujeto, no era en realidad peor que los otros; antes bien, honraba la medicina --en la cual debía recibirse-- con su bella presunción apostólica.
Cuando se rasgó la mano en la vértebra de nuestro muerto en disección--¡qué pleuresía justa!-- no se dio cuenta. Al rato, al retirar la mano, vio la erosión y quedó un momento mirándola. Tuvo la idea fugitiva de continuar, y aún hizo un movimiento para hundirla de nuevo; pero toda la Academia de Medicina y Bacteriología se impuso, y dejó el bisturí. Se lavó copiosamente. De tarde volvió a la Facultad; se hizo cauterizar la erosión, aunque era ya un poco tarde, cosa que él vio bastante claro. A las 22 horas, minuto por minuto, tuvo el primer escalofrío. Ahora bien; apenas desgarrada la epidermis--en el incidente de la vértebra--nos lanzamos dentro con una precipitación que aceleraba el terror del bicloruro inminente, seguros de las cobardías de Foxterrier.
A los dos minutos se lavó. La corriente arrastró e inutilizó la tercera parte de la colonia. El termocauterio, de tarde, con el sacrificio de los que quedaron, selló su propia tumba, encerrándonos.
Al anochecer comenzó la lucha. En las primeras horas nos reprodujimos silenciosamente. Éramos muchos, sin duda; pero, como a los 20 minutos, éramos el doble (¿cómo han subido éstos, los otros?) y a los 40 minutos el cuádruple, a las 6 horas éramos 180.000 veces más y esto trajo el primer ataque.
Creo estar seguro de que --a no ser nosotros--cualquier otra colonia hubiera sucumbido el primer día dada la enérgica fagocitosis de Foxterrier.
Algo importante era para nuestra energía, nuestra propia meditación del crimen. Si llegamos al último grado de exasperación séptica, hicimos lo posible de conseguirlo, siquiera en honor del infierno blanco con que íbamos a tener que combatir. Nos envolvían sin paz posible, pero llevaban la muerte con nosotros en la propia absorción.
Continuábamos incansables nuestra secreción mortífera, moríamos a trillones, multiplicándonos de nuevo, y a las 22 horas de esta lucha desesperada, la colonia entera vibró de alegría dentro de Foxterrier: acababa de tener el primer escalofrío.
Justo es que lo diga, no abrigó ni remotamente una sola duda respecto a lo se que desplomaba sobre él.
Se acostó enseguida. Sintióse mejor, sin duda, como era natural. Pero a los veinte minutos repitióse el escalofrío, la temperatura subió, y desde este momento, el cuadro de su horrible enfermedad ajustóse en un todo a lo que habíamos decidido.
En casa de Foxterrier no había estufa. Como esos días fueron crudos, encendiéronse en su cuarto dos o tres lámparas, que no se apagaron más hasta que murió. Sus compañeros no le dejaron un momento, turnándose, llenos de triste serenidad fraternal ante ese sacrificio que compartía su apostolado común. Algo más grave debía ser para nosotros la academia reunida.
La quinina fue nuestro tormento continuo con el hielo de su presencia, enfriándonos, deteniendo nuestra vertiginosa reproducción. Y el suero, el maldito suero claro ampliando una energía cardíaca tan ridícula como desesperada, sosteniendo la corriente, barriendo nuestra obra con su estéril purificación. Los baños, el café, los paños fríos, sostenían a su vez la química. Luego, los riñones eliminaban demasiado...
De modo que a la mañana siguiente, último día de Foxterrier, decidimos subir la temperatura y sostenerla a toda costa.
Lo primero, indudablemente, era no localizarnos, a pesar de que una espléndida bronconeumonía nos tentaba como a una criatura. Ya la trementina inyectada a nuestro paso había sido un martirio, en razón de su reducción casi irresistible.
Hubiera sido una locura fijarnos, y sobre todo una crueldad más para Foxterrier, ya que nuestra excitación debía de todos modos concluir con él. No puedo recordar las últimas horas sin un violento escalofrío que Foxterrier había compartido ya. En efecto, a las tres Foxterrier tenía 41,5 °C de fiebre. Resistió un momento aún, pues si en el mundo que abandonó con nosotros hubo un cerebro claro, fue el de Eduardo. A las cuatro, la tem-peratura subió a 42 °C y se rindió en franco delirio. No hubo ya esperanzas; el pulso no

daba más, a pesar de las estricninas y de los aceites, a las cinco cayó en coma y la fiebre subió a 42,4 °C. En este momento tuvimos recién la idea de nuestro propio peligro. Hubo una voz de alarma, sin duda, que salió de lo profundo de nuestra angustia:
¡La temperatura! ¡La temperatura! ¿Pero qué podíamos hacer? Tan grande había sido y era nuestra exasperación, que nuestras toxinas se tornaban luminosas. Ni aún podíamos detenernos, en una violencia de secreción meditada dos meses enteros. A las cinco y cuarto Foxterrier tenía 43,1 °C y murió. Fue en balde nuestra desesperación. Continuamos multiplicándonos, secretando nuevos ríos de toxinas La mitad de la colo
nia murió. Un ambiente de fuego, asfixia y honra comprometida, se llevó los últimos restos de nuestra actividad, y mis recuerdos se cortan aquí, a la hora y doce minutos de haber muerto Foxterrier.
Agradecemos este aporte a la Srta. Verónica Rodríguez, médica especialista en toco-ginecología (ex-alumna de la cátedra).

BACTERIEMIA

Conceptos

Definimos como bacteriemia a la presencia de bacterias viables en la sangre que se pone de manifiesto por su aislamiento en los hemocultivos. La bacteriemia es una com-plicación grave de determinadas infecciones bacterianas.
Los términos fungemia, viremia y parasitemia se utilizan para designar la presencia de hongos, virus y parásitos en la sangre, respectivamente, de forma análoga a como hemos definido bacteriemia.
Septicemia o sepsis son expresiones que se emplean a menudo para denominar el síndrome clínico con el que se manifiesta la bacteriemias, independientemente del resultado de los hemocultivos. A partir de 1992, un grupo de expertos, con el fin de unificar criterios clínicos estableció varios estadios de infección con términos específicos: sepsis, sepsis severa, choque séptico, Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SIRS) y Síndrome de Disfunción Orgánica Múltiple. SIRS es una respuesta inflamatoria (mecanismos inmunológicos defensores que tratan de limitar los daños y restablecer la hemostasia) a diferentes injurias, una de las cuales puede ser infecciosa. Se determina por signos clínicos específicos. Sepsis corresponde al SIRS por causa infecciosa.

Tipos y causas de bacteriemia

La bacteriemia se produce cuando la llegada y multiplicación de bacterias a la sangre supera la capacidad del sistema reticuloendotelial para eliminarlas. La invasión del torrente sanguíneo por parte de los microorganismos se produce desde un foco de infección extravascular, a través de los capilares o de las vías linfáticas, o desde un foco intravascular como en la endocarditis. La bacteriemia pueden producirse después de un proceso fisiológico como el cepillado de dientes, el coito e inclusive la digestión. Estos mecanismos hacen que la microbiota normal presente en las mucosas se movilice pasando a la sangre. La cantidad de bacterias que ingresan es pequeña e inmediatamente son eliminadas por el sistema inmune. Esta bacteriemia se denominan fisiológica.
La bacteriemia patológica originada a partir de procesos infecciosos o manipuleo de zonas normalmente contaminadas, se puede clasificar de acuerdo a la permanencia de los gérmenes en la sangre en: transitoria, intermitente y continua. La bacteriemia transitoria con una duración corta, se produce como consecuencia de instrumentación de superficies mucosas colonizadas (procedimientos odontológicos, endoscopías, citoscopías). También puede acompañar a algunas enfermedades infecciosas como la neumonía, meningitis, pielonefritis aguda etc. La bacteriemia intermitente se produce espontáneamente a partir de un foco como un absceso, provocando la presencia de bacterias en la sangre en forma discontinua. En la bacteriemia continua el foco es intravascular, como ocurre en una endocarditis, una endarteritis o una tromboflebitis séptica. Las bacterias están en forma permanente en el torrente circulatorio
La detección de bacteriemia es obligada ante determinados focos de infección como: infección urinaria alta, neumonía, enterocolitis por agentes invasivos, meningoencefalitis, endocarditis, etc. En determinadas situaciones el acceso bacteriano puede ser directo al torrente cardiovascular, como en el caso de pacientes adictos a drogas intravenosas, portadores de catéteres intravasculares o sometidos a cirugía cardiaca.
Se denomina bacteriemia primaria cuando el foco de origen permanece desconocido y bacteriemia secundaria cuando se conoce el foco infeccioso que la originó.
Es importante el diagnóstico precoz, exacto y la administración de un tratamiento anti-microbiano adecuado porque la bacteriemia tiene implicancias pronósticas importantes (20 a 40% de mortalidad). El

aislamiento de un microorganismo en los hemocultivos es trascendente porque establece el diagnóstico etiológico de la bacteriemia y permite conocer la sensibilidad del microorganismo causal a los antimicrobianos.
Los pacientes más predispuestos a padecerla son aquellos con graves enfermedades de base y los sometidos a maniobras que causan alteraciones de los mecanismos generales y locales de defensa frente a la infección.
Las manifestaciones clínicas de la bacteriemia son muy variadas y van desde un cuadro febril, sin ninguna otra manifestación clínica, hasta el choque séptico con fracaso multiorgánico.

Etiología de las bacteriemia
Los agentes etiológicos varían según la edad, enfermedad de base, foco, lugar de adquisición (en la comunidad o en el hospital), tratamiento previo y prolongado con antimicrobianos, inmunodepresión, procedimientos invasivos previos, etc. En general, los microorganismos aislados con mayor frecuencia como causas de bacteriemia y/o sepsis son: Staphylococcus aureus Staphylococcus epidermidis E. coli., S..pneumoniae, K. pneumoniae, Enterobacter spp. ,Pseudomonas aeruginosa. Un 10% de los casos de bacteriemia son producidas por bacterias anaerobias.
Tanto las características del agente infeccioso o el tipo de respuesta desencadenada en el hospedero tienen influencia en la evolución de la sepsis. Determinados microorganismos, como por ejemplo los bacilos Gram negativos poseen un factor de virulencia importante como la endotoxina, con gran capacidad de desarrollar rápidamente una falla multiorgánica al producir un shock endotóxico. También influye el polimorfismo genético del hospedero que condiciona diferentes respuestas ante la agresión bacteriana.

Fisiopatogenia de la sepsis
Este cuadro es resultado de complejas interacciones entre el agente infectante y las respuestas inmune, inflamatoria y de la coagulación del huésped. La sepsis comienza con la proliferación de microorganismos en el foco infeccioso, que pueden invadir el torrente sanguíneo, o no hacerlo, pero sí liberar hacia dicho espacio diversos componentes estructurales (endotoxinas, ácidos teicoicos y exotoxinas) capaces de activar a los monocitos y macrófagos, neutrófilos y células endoteliales. Todas estas células sintetizan y secretan de forma incontrolada mediadores inflamatorios con una amplia gama de efectos biológicos, que actúan sinérgicamente. Dichos componentes bacterianos también producen la activación de mecanismo enzimáticos humorales interrelacionados que incluyen el complemento, la cascada de la coagulación, la fibrinólisis y la vía de las cininas, generando la llamada tormenta de citoquinas. El balance entre estos mecanismos facilita la recuperación de la homeostasis en condiciones normales. Aunque la inflamación constituye una respuesta esencial del hospedero, se cree que en esta enfermedad existiría una falta de regulación de la respuesta normal, con liberación masiva y descontrolada de mediadores químicos que llevan al daño tisular. Sus efectos se traducen en daño endotelial de la microvasculatura, escape de líquido del compartimiento intravascular y disminución de la oxigenación e hipoperfusión tisular.

"Este es un fenómeno sistémico por eso compromete todos los órganos".

Otro aspecto importante en la patogenia de la sepsis es la alteración del equilibrio procoagulación-anticoagulación, ya que se produce un aumento en los factores procoagulantes. El lipopolisacárido activa la cascada de la coagulación a través de la estimulación de las células endoteliales: el fibrinógeno se transforma en fibrina y conduce a la formación de trombos microvasculares que aumentan aún más el daño endotelial.
La invasión del torrente sanguíneo por parte de los microorganismos se produce desde un foco de infección extravascular, a través de los capilares o vías linfáticas o desde un foco intravascular como lo es la endocarditis.

Diagnóstico de las bacteriemia
El diagnóstico de la bacteriemia se establece cuando se aísla el microorganismo causal en la sangre, mediante el hemocultivo.

Indicaciones clínicas
Las indicaciones más importantes son:
* fiebre para la que no existe una causa clara que la explique (fiebre de origen desconocido y más de 15 días de duración)
* choque séptico
* Infecciones localizadas con alto pronóstico de com-

plicaciones: neumonía, pielonefritis, aguda, meningoencefalitis, infecciones intraabdominales, infecciones graves de la piel o tejido celular subcutáneo, osteomielitis aguda, artritis séptica.
La presencia de leucopenia, leucocitosis o trombopenia no relacionada con procesos hematológicos.pueden ser orientadoras de foco oculto de bacteriemia.

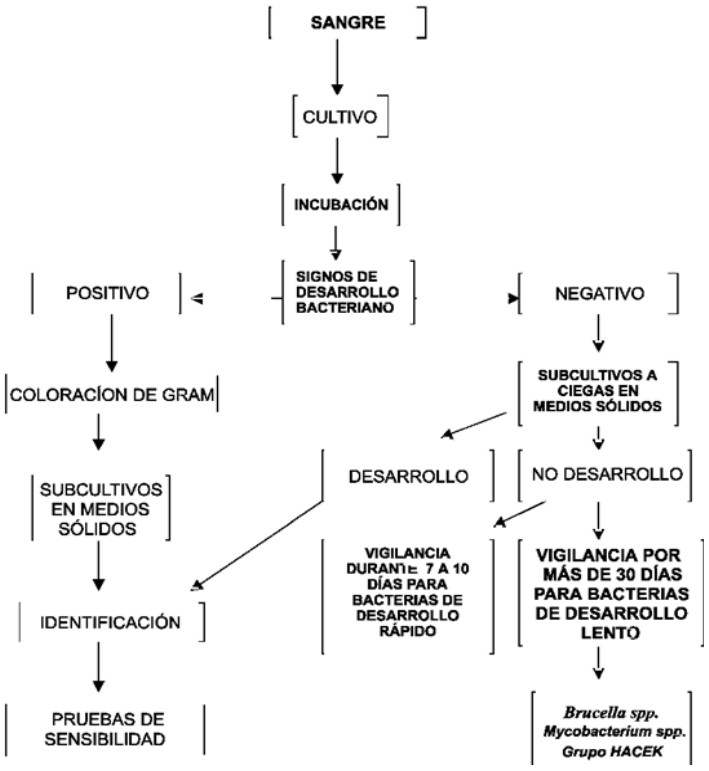
Diagnóstico microbiológico

Uno de los pasos más importantes para conseguir el óptimo rendimiento de los hemocultivos es la toma de la muestra. Para esto el operador debe estar capacitado. La sangre debe obtenerse por punción venosa o arterial, aunque se realice con mayor frecuencia veno-punción por la accesibilidad de las venas.
La higiene de manos es absolutamente indispensable como primera medida antes de colocarse los guantes.

Toma de sangre para hemocultivos

1. antisepsia de la piel del paciente con gasa estéril e iodopovidona al 2% en forma excéntrica en el sitio de veno punción dejando actuar 2 minutos; y posteriormente retirar el iodo con alcohol al 70% (esta graduación desnaturaliza proteínas bacterianas).
2-El volumen de sangre a cultivar para adultos por métodos tradicionales (no sistemas automatizados) es de 10 ml por extracción, ya que los frascos de medio de cultivo contienen 100 ml de caldo. y la proporción sangre-medio de cultivo debe ser 1/10. Si éstos son de 50 ml, se inocularán 5 ml de sangre. Para niños, el volumen de caldo es de 10 ml, por lo que la cantidad de sangre será de 1 ml. En neonatos solo se obtienen 0,5 ml de sangre.
En general se suelen extraer dos o tres hemocultivos, Cada frasco debe ser decontaminado con una gasa embebida en alcohol iodado que permanecerá en contacto con el tapón entre uno o dos minutos, antes de efectuar la siembra del frasco. Cada una de las muestras se obtendrá de diferentes sitios de veno-punción para minimizar contaminaciones. La inoculación en los medios de cultivo se realiza en el mismo lugar donde se obtuvo la sangre. El caldo debe permanecer en posición vertical y sin que la aguja toque el medio líquido. Nunca se fracciona la muestra obtenida en diferentes frascos.
El aumento de volumen de la sangre a cultivar aumenta la posibilidad de recuperación bacteriana.
El momento oportuno para la extracción de sangre sería antes del comienzo de la fiebre, que indica toxemia, es decir, que las bacterias pasaron antes por el torrente sanguíneo; sin embargo es poco práctico ya que no siempre se conoce la curva febril del paciente. Se acepta que las extracciones se realicen cada 30 minutos. En casos de extrema urgencia como meningitis o sepsis, el intervalo puede reducirse.
Cada extracción se acompañará de un protocolo en el que consten, al menos, los siguientes datos: nombre y apellido del paciente, fecha y hora de extracción, servicio de procedencia, número de cama, nombre del médico que realiza la petición, diagnóstico presuntivo, y tratamiento antimicrobiano previo si lo hubiere.
Los hemocultivos se enviarán inmediatamente al laboratorio de microbiología. Se incubarán en estufa a 35-37ºC; si no es posible, se dejarán a temperatura ambiente. Nunca se debe refrigerar una muestra para hemocultivo. Es aconsejable extraer la sangre antes de comenzar el tratamiento antimicrobiano.
Es necesario recordar que la sangre inoculada en los frascos puede contener microorganismos viables, incluidos los virus de la Hepatitis B y C o el VIH, lo que implica un riesgo de infección para las personas que los manipulan. En este sentido es muy importante cumplir estrictamente con las normas de bioseguridad (normas de prevención) en el manejo de sangre. Algunas de las mismas son: utilización de guantes, batas, no reinserción de las agujas en su capuchón original, descarte de las mismas en envases rígidos preparados a tal efecto.

ALGORITMO PARA EL DIAGNÓSTICO DE BACTERIEMIAS



Los frascos de hemocultivos deben ser examinados diariamente durante el período que se mantengan en incubación. Para ello, se extraerán de la estufa y se realizará la inspección visual de los caldos en busca de los signos macroscópicos que indican crecimiento bacteriano como la turbidez, la presencia de colonias bacterianas, la hemólisis o la producción de gas

La primera inspección se realizará tras 18-24 horas de incubación en adultos, 6 horas en niños. A los frascos con signos macroscópicos de crecimiento se les realizará extracción de su contenido con aguja y jeringa estéril para realizar la coloración de Gram y observar la forma y coloración de los microorganismos. Con estos datos lo primero en realizarse es la interpretación, asignando a este desarrollo el valor de bacteriemia verdadera o contaminación. Este contenido, representado por el desarrollo de bacterias en el caldo se subcultiva en un medio de cultivo sólido enriquecido (agar sangre, agar chocolate) para proceder a su identificación y pruebas de sensibilidad.

En los hemocultivos sin signos de desarrollo, con el fin de detectar lo antes posible la presencia de bacterias, que pueden estar en bajo inóculo; se realizará un subcultivo denominado "a ciegas" en medios de cultivo enriquecidos también, como el agar chocolate o agar sangre, incubándolos a 35-37ºC en microaerofilia, para que crezcan además las bacterias más exigentes.

Los frascos de hemocultivos y los medios donde fueron subcultivados se examinarán, mediante inspección visual, diariamente durante 7 a 10 días.

Si no se obtiene crecimiento al cabo de ese tiempo, se desecharán los frascos y las placas y los hemocultivos serán informados como negativos (sin desarrollo bacteriano).

La mayoría de los microorganismos que causan bacteriemia se detectan en los primeros 2 o 3 días de incubación. Existen algunos microorganismos que necesitan un período de incubación más largo, como Brucella spp. y bacterias de difícil crecimiento que causan endocarditis, como el grupo HACEK (Haemophilus spp., Agreggatibacter acti-nomycetemcomitans, Cardiobacterium hominis, Eikenella corrodens, Kingella kingae). También algunos hongos pueden necesitar más tiempo de incubación. Cuando se sos-pecha la existencia de estos patógenos se mantienen incubando los hemocultivos hasta 4 semanas.

Otros métodos

Métodos semicuantitativos (Lisis-centrifugación): se realiza la extracción de sangre en un tubo con saponina o agua destilada que rompe las células sanguíneas. La sangre se centrifuga y el sedimento se siembra directamente en las placas con medios de cultivo enriquecidos o selectivos de acuerdo al microorganismo sospechoso. Este método permite una identificación más rápida de los microorganismos causales y facilita la búsqueda de bacterias intracelulares como micobacterias u hongos.

Métodos automatizados

En los últimos años se han desarrollado diferentes sistemas automatizados para la lectura de los hemocultivos con el fin de aumentar la sensibilidad y la rapidez en la detección del crecimiento bacteriano y agilizar el trabajo del personal encargado con menor exposición a la sangre

Son procedimientos en los cuales la lectura del desarrollo de los microorganismos, en lugar de hacerse por visualización de signos de desarrollo en los caldos, es realizado por un aparato dentro del cual se colocan los hemocultivos recién extraídos. Este mismo pone en evidencia el desarrollo de los microorganismos mediante la detección de la producción de CO_2 a través de métodos como: radiometría, fluorimetría, espectrometría de infrarrojos, cambios de pH.

Interpretación de los resultados

La interpretación óptima de los resultados de los hemocultivos requiere no solamente conocer el microorganismo aislado y el número de hemocultivos en los que desarrolló, sino además implica el conocimiento de la situación clínica del paciente, su enfermedad de base, los factores predisponentes a la infección, los tratamientos antimicrobianos que le han sido administrados y la correcta toma de muestra.

El desarrollo de microorganismos en hemocultivos implica determinar si corresponde a bacteriemia verdadera o contaminación.

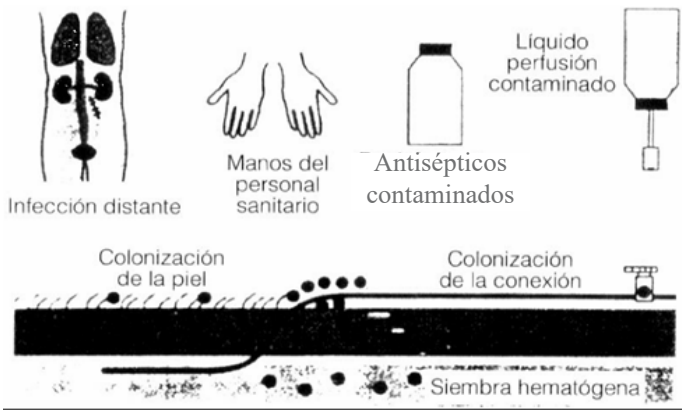
Como criterios de interpretación se debe tener en cuenta que: si el género bacteriano desarrollado corresponde a una bacteria que forma parte de la microbiota normal cutánea (Staphylococcus spp. coagulasa negativa, Corynebacterium spp., Propionibacterium acnes) o corresponde a un contaminante ambiental como el género Bacillus spp., debe encontrarse al menos en dos caldos para considerarlo agente y no contaminante.

Se considera hemocultivo positivo a la serie en la que el mismo microorganismo que ha desarrollado

en dos o más frascos y presenta la misma sensibilidad frente a los antimicrobianos.
Por otro lado el aislamiento de un microorganismo que no constituye la flora colonizante de piel en sólo un frasco de la serie de hemocultivos hace invariablemente en el diagnóstico de bacteriemia por ese agente. Los ejemplos clásicos son Brucella spp. y Salmonella spp.

Sepsis a punto de partida de catéteres
El uso cada vez más frecuente de catéteres intravasculares con fines diagnósticos o terapéuticos ha determinado la aparición de un número importante de complicaciones, principalmente infecciosas, asociadas a su inserción y manipulación posterior. Estas infecciones pueden ser locales (celulitis o flebitis en el punto de entrada) o generalizadas (bacteriemias) y pueden dar lugar a complicaciones severas (endocarditis, sepsis) que pueden condicionar la muerte del paciente. Se estima que la bacteriemia asociada a un catéter se produce entre el 1 y el 8% de las cánulas utilizadas. Por otra parte, el 33% de las bacteriemias nosocomiales se originan en catéteres intravasculares, incrementando en forma considerable los gastos asistenciales.
Un catéter es un cuerpo extraño que genera una solución de continuidad en la piel. Posee dos extremos abiertos, uno proximal conectado al paciente y el otro distal en relación al ambiente hospitalario (microbiota hospitalaria y manos del personal). Esto conlleva a que los microorganismos colonizantes de la microbiota normal encuentren un camino de acceso directo al torrente sanguíneo. Las vías más frecuentes de colonización e infección de un catéter intravascular son:

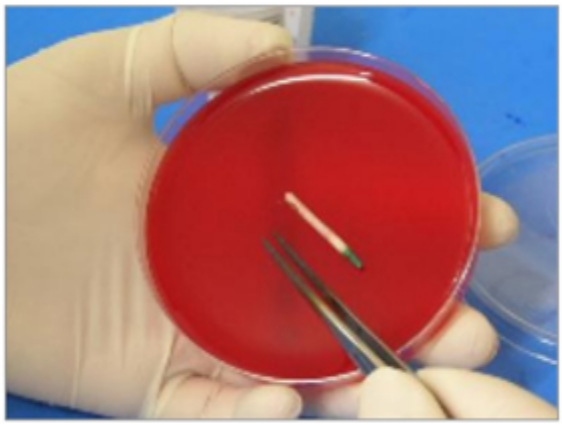
· A través de la zona de inserción pericatéter, migran por la superficie externa del mismo (vía extraluminal).
· A través de la conexión externa del catéter, penetran por su luz y llegan al segmento intravascular (vía intraluminal).
· Otras posibles fuentes de infección mucho más raras pueden provenir de un foco séptico distante y a partir de soluciones de perfusión contaminadas.



Puertas de entrada de las bacterias en la patogenia de infecciones asociada a catéter intravascular

A las pocas horas de colocar un catéter, puede colonizarse con las bacterias de la microbiota cutánea sin producir ningún signo ni síntoma local o general. Sin embargo, hay casos en los que esa colonización inicial puede provocar una infección del mismo provocando la aparición de signos locales en la piel circundante a la inserción, o provocar el pasaje a sangre de bacterias con la aparición de signos y síntomas propios de una sepsis. En estos casos es importante determinar si la misma tiene como punto de partida el catéter, el cual habrá que extraerlo, o corresponde a otro foco de origen.

Cultivo de la punta de catéter (Técnica de Maki)
En la actualidad el método más difundido para evaluar el catéter es la técnica de cultivo semicuantitativo (técnica de Maki, 1977). La misma consiste en extraer el catéter, cortar el extremo proximal y llevarlo al laboratorio de bacteriología en frasco estéril. Su procesamiento consiste en hacerlo rotar 4 veces sobre la superficie de una placa de agar sangre. Se evalúa mediante el recuento de colonias.
Es imprescindible extraer, antes de sacar el catéter, dos hemocultivos periféricos al paciente.
Una punta de catéter con más de 15 UFC se considera Maki positivo. Una punta de catéter con más de 15 UFC y hemocultivo periférico con el mismo microorganismo, es diagnóstico de bacteriemia originada en el catéter. Los agentes etiológicos más frecuentes son: Staphylococcus epidermidis, S. aureus, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella spp., Enterobacter cloacae, Enterobacter aerogenes, Acinetobacter baumanii y levaduras.



Método correcto de siembra de catéter por Técnica de Maki

Técnica de Retrocultivo

Existen casos en los que es imperioso que el paciente continúe canalizado y valorar el catéter sin la extracción del mismo. Para ello se utiliza la técnica del retrocultivo.

Se extrae sangre a través del catéter y se introduce en un tubo que contenga anticoagulante. Se transporta al laboratorio rápidamente y se mezcla 1 ml de esta sangre con agar nutritivo fundido y luego se plaquea para solidificar. Luego de la incuba-ción si hay desarrollo se realiza el recuento de colonias.

Además se realiza hemocultivo de una vena periférica, el cual también se procesa en forma cuantitativa, igual a la sangre del retrocultivo, para comparar resultados.

Se considera bacteriemia relacionada al catéter cuando el recuento de colonias del retrocultivo es 5 a 10 veces mayor que el de la sangre periférica, en el contexto de un cuadro clínico compatible. La bacteria aislada tanto del retrocultivo como del hemocultivo convencional debe ser la misma.

ENDOCARDITIS INFECCIOSA (EI)

La EI es una entidad clínica de elevada morbimortalidad, que históricamente ha resultado fascinante para el médico por su compleja presentación y las dificultades diag-nósticas que plantea.

Dicha enfermedad está caracterizada por la invasión del endotelio cardíaco mural y valvular por una variedad de agentes infecciosos, entre los que predominan las bacterias; con menor frecuencia también pueden producirla hongos, rickettsias, clamidias y virus.

Cuando el endotelio cardíaco está íntegro en general es relativamente resistente a la infección; sin embargo, si existe alguna lesión en el mismo, a partir de la llegada de microorganismos por vía hematógena podría producirse un proceso inflamatorio con depósito de plaquetas y fibrina favoreciendo la colonización y multiplicación microbiana con formación de vegetaciones (lesiones típicas de la EI).

De hecho, en la mayoría de los casos de EI existe una lesión predisponente (enfermedad cardíaca subyacente): valvulopatía reumática, prolapso mitral, cardiopatías congénitas y prótesis valvulares. Sin embargo, debemos aclarar que puede desarrollarse EI en válvulas previamente sanas y estructuralmente normales (llamadas también “nativas”).

En la patogenia de la EI se destaca un evento desencadenante: procedimientos odontológicos (como extracciones dentarias, tratamientos de conducto o cirugías); procedimientos genitourinarios (como colocación de sondas, endoscopías o cirugías); presencia de dispositivos o catéteres intravasculares; o presencia de focos infecciosos distantes, entre los más frecuentes.

Así, los microorganismos colonizantes pueden llegar al torrente sanguíneo de diversa manera. Streptococcus viridans llegan desde la boca cuando existen caries, piezas dentarias dañadas o en mal estado e inclusive extracciones dentarias o cualquier procedimiento odontológico invasivo. Los estafilococcos de la piel pueden llegar al corazón a través de soluciones de continuidad de la piel (piel no intacta) ayudados en muchas ocasiones por la colocación de un catéter, el uso de agujas para distintos fines (terapéuticos, adicción a drogas intravenosas).

En los últimos años se han producido importantes cambios en los aspectos epidemiológicos, diagnósticos y terapéuticos de la EI. Actualmente se observa: una frecuencia mayor en los gerontes varones y ha habido una disminución de la etiología de origen estreptocócico (debido a la menor prevalencia de patología valvular reumática); a favor del aumento de las etiologías estafilocócicas. También se han incrementado los casos en pacientes hemodializados, en portadores de marcapasos y en pacientes hospitalizados.

La edad avanzada es un factor predisponente importante (quizás por la mayor instrumentación vascular y/o urinaria, presencia de estenosis aórtica post-calcificación y presencia de marcapasos, sumado a mayor cantidad de piezas dentarias en mal estado).

La EI clínicamente se presenta como un síndrome febril prolongado, acompañado de otros síntomas variables, y el signo más importante al examen físico es la presencia de soplo a la auscultación cardíaca. Con respecto a la forma aguda de EI, en general su

presentación clínica es como en la sepsis. Las formas subagudas, en cambio, pueden simular muchas otras enfermedades.

Agentes causales de EI

Estreptococos: son los microorganismos causantes más frecuentes. Ocasionan entre el 30% y el 65% de los casos de endocarditis infecciosa de las válvulas nativas e incluye principalmente especies del grupo viridans (SGV).

Enterococos: frecuentes como causa de infecciones nosocomiales.

Estafilococos: S. aureus es agente causal en el 30% de los casos de endocarditis infecciosa en válvulas nativas, y es la causa más común de endocarditis nosocomial. Los estafilococos son los agentes etiológicos más importantes asociados con uso de drogas ilícitas intravenosas. S. epidermidis produce infecciones en prótesis valvulares.

Bacilos Gram negativos: Enterobacterias como E. coli, Klebsiella spp, Proteus spp, Serratia marcescens, son causantes hasta del 5% de los casos de endocarditis infec-ciosa en válvulas nativas.

Los bacilos Gram negativos del grupo HACEK (Haemophilus spp, Aggregatibacter acti-nomycetemcomitans, Cardiobacterium hominis, Eikenella corrodens y Kingella kingae) son habitantes normales de la parte superior del aparato respiratorio y la bucofaringe, e infectan válvulas cardiacas anormales, ocasionando endocarditis infecciosa subaguda y endocarditis en válvulas protésicas.

Diagnóstico de EI

El diagnóstico se basa en hallazgos clínicos, bacteriológicos y ecocardiográficos, que se conocen como Criterios de Durack.

En cuanto al diagnóstico microbiológico de EI, se realiza a través de hemocultivos, con el objeto de documentar la bacteriemia, de tipo continuo. Se toman las muestras, teniendo en cuenta la antisepsia previa y las normas de bioseguridad.

El tratamiento antibiótico se basa en los hallazgos del hemocultivo, y en el resultado de las pruebas de sensibilidad antimicrobiana. En este punto es necesario remarcar que se debe solicitar una prueba de dilución en caldo para la determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima para el o los antimicrobianos que se vayan a indicar en el tratamiento.

Paciente con infección por VIH

Es bien conocido que el estado inmunitario de estos pacientes condiciona una elevada incidencia de infecciones oportunistas, cuya etiología más frecuente es Staphylococcus aureus y Salmonella spp. Además, este tipo de enfermos presentan infecciones oportunistas diseminadas causadas por micobacterias, hongos o parásitos que pueden detectarse mediante hemocultivo utilizando el método de lisis centrifugación. Son frecuentes las infecciones diseminadas por Mycobacterium avium, Mycobacterium tuberculosis,Cryptococcus neoformans, Histoplasma capsulatum.

Por lo tanto, es aconsejable notificar siempre al Laboratorio de Microbiología si un paciente está infectado con VIH porque puede ser conveniente utilizar alguna metodología específica y prolongar el período de incubación o realizar cultivos especiales según la orientación diagnóstica del proceso infeccioso actual.

Bibliografia

• Murray P, Baron E etal 1999. Manual of Clinical microbyology.ASM 7 Edition. Washington DC. USA.

• Mins CA, Playfair J.H.L y col 1995. Microbiología Médica. Mosby Doyma Libros. Madrid . España.

• Blood Culture IV Cumitech (Cumulative Tecniques and Procedures in Clinical Microbiology). Ellen Jo Baron. Melvin P. Weinstein. January 2000.

Capítulo 21
Fiebres hemorrágicas virales

Introducción

Las fiebres hemorrágicas virales son un conjunto de enfermedades producidas por la infección de diversos virus (Tabla 1) que tienen muchas características clínicas comunes, como el incremento de la permeabilidad capilar, leucopenia y trombocitopenia. Las caracterírsticas clínicas de las fiebres hemorrágicas abarcan un comienzo súbito de fiebre, cefaleas, mialgias generalizadas, dolores en la espalda, conjuntivitis y postración severa, seguidos por diversos síntomas hemorrágicos.
El siguiente cuadro resume algunas características de las fiebres hemorrágicas virales:

FAMILIA	AGENTE	DISTRIBUCIÓN	TRANSMISIÓN
Flaviviridae	Fiebre amarilla (Arbovirus)	Sudamérica y África	Mosquitos del género Aedes
Flaviviridae	Dengue (1-4) (Arbovirus)	Sudamérica, Caribe, China, SE asiático	Mosquitos del género Aedes
Arenaviridae	Junín	Argentina	Inhalación de aerosoles con-ta-minados, con-tacto con tejidos y secreciones del roedor
Arenaviridae	Machupo	Bolivia	Contacto con aerosoles o comi-da contaminada con el roedor reservorio
Arenaviridae	Guanarito	Venezuela	¿Contacto con deyecciones del animal reservorio?
Arenaviridae	Lassa	África Occidental	Contacto con aerosoles y roe-dores contamina-dos. Transmisión persona a persona y nosocomial
Filoviridae	Marburg	Uganda, Kenia y Zimbabwe	Contacto con animales enfer-mos (primates), principalmente sangre. Transmis-ión parenteral y por contacto con sangre y fluidos contaminados de enfermos
Filoviridae	Ébola	Zaire y Sudán	Contacto con animales enfer-mos (primates), principalmente sangre. Transmis-ión parenteral y por contacto con sangre y fluidos contaminados de enfermos
Bunyaviridae	Hantaan	Sudamérica, Corea, Japón, Este de China, Man-churia, Europa Central y Rusia	Aerosoles de roe-dores infectados

Cuadro clínico de las fiebres hemorrágicas

El cuadro clínico se inicia de forma repentina y súbita, el paciente puede presentar cefalea intensa, lumbalgia, artralgias y mialgias generalizadas, con síntomas y signos conjuntivales (escozor, enrojecimiento, tinte subictérico o ictérico) y postración intensa. Luego de dos o tres días el paciente puede presentar hipotensión arterial, y manifestaciones hemorrágicas tales como gingivorragia, epistaxis, hemoptisis, sangrado digestivo alto, petequias, equimosis o hemorragias viscerales. Hematologicamente, aparece leucopenia y después se presenta la hemorragia que se manifiesta con leucocitosis, aumento de enzimas hepáticas y pruebas de función renal alteradas.
Entre 10 a 20 días despues el paciente se puede agravar, presentandose síntomas encefálicos, falla multiorgánica y coma. En esta etapa de la infección el paciente puede fallecer.

Desarrollaremos en este capítulo las fiebres hemorrágicas virales del continente americano.

Fiebre hemorrágica boliviana

En 1962 se produjo una epidemia de enfermedad infecciosa grave y a menudo mortal en la pequeña ciudad de San Joaquín, Bolivia. Los pacientes presentaban fiebre, mialgias y exantema, seguido por fuga capilar, hemorragia, choque y afectación neurológica. La enfermedad se denominó “Fiebre Hemorrágica Boliviana” y produjo una tasa de mortalidad del 15%. Las extensas investigaciones no consiguieron demostrar un vector artrópodo, pero la evidencia sugirió la participación de los ratones en la epidemia. Sobre la base de esta posibilidad, se lanzaron desde el aire cientos de ratoneras y pronto se demostró que la captura de ratones tenía un efecto espectacular sobre la

incidencia de la enfermedad. La epidemia se detuvo totalmente. De forma independiente se aisló un virus en los tejidos de un ratón de campo local atrapado (Calomys caiosus). Se demostró que el virus causaba una infección inofensiva durante toda la vida en ese animal, con excreción continua de partículas virales a través de la orina y las heces. El virus (conocido como Machupo) era un Arenavirus, grupo en el que se incluyen el agente de la Fiebre Hemorrágica Argentina, la Coriomeningitis Linfocitaria y la Fiebre de Lassa, los cuales pueden causar infección persistente inofensiva en el hospedero natural, pero producen con frecuencia enfermedad grave en los humanos expuestos a animales infectados.
Este virus se transmite al humano al ponerse en contacto con las excretas o secreciones bucales de los roedores (Calomys callosus), los cuales viven alrededor de los granos de las cosechas. Tambien de puede transmitir en forma de aerosol, pues el virus se mantiene en el medio, también puede infectar a travésde las úlceras y excoriaciones de la piel. Se puede transmitir de humano a humano.
El período de incubación es variable, de 7 a 16 días dependiendo del estado inmunológico del paciente.

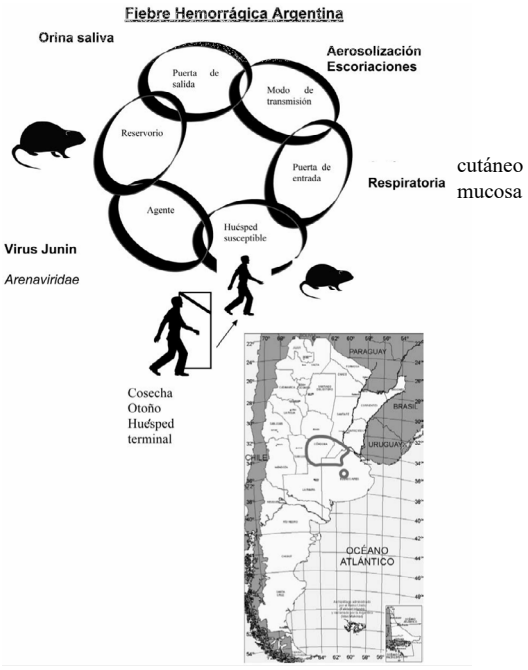
Tratamiento
Aislamiento estricto del paciente mientras dure el cuadro febril. Control estricto de las secreciones respiratorias, excretas, así como de la sangre del paciente. Se debe evitar el uso del ácido acetilsalicílico y derivados. Administración de antivirales.

Diagnóstico
Determinación de IgM y detección de anticuerpos neutralizantes por el método de.
Detección del virus mediante PCR o aislamiento viral.

Fiebre Hemorragica Argentina o Mal de los rastrojos

Es producido por el Virus Junín, el cual fue aislado por primera vez en 1958 durante un brote severo de la enfermedad. Este virus es transmitido por roedores de las especies Akodon y Calomys.
La puerta de entrada son las escoriaciones en la piel, por la mucosa conjuntival, o por vía respiratoria. Este último mecanismo se relaciona con la aerosolización de las secreciones tales como orina y saliva de los roedores infectados. En los roedores la transmisión es horizontal y vertical.

Epidemiología
El área endémica abarca la zona agro-ganadera ubicada en el sudeste de Córdoba, sur de Santa Fe, norte de La Pampa y noroeste de Buenos Aires.
Los cultivos de maíz favoren la multiplicación de los roedores que sirven de hospedero y reservorio de este virus: el Callomys musculinus y Callomys laucha y aumentan los contactos entre los roedores y los campesinos de la región.
Los roedores excretan el virus por la orina y posiblemente otros líquidos corporales y contaminan el medio ambiente. El hombre se infecta accidentalmente al ponerse en contacto con este medio contaminado, ya sea por inhalación de partículas infectadas o a través de la piel y las mucosas. La infección tiene un pico estacional en otoño coincidente con la recolección de la cosecha. Es 4 veces más frecuente en hombres que en mujeres y el 10 % corresponde a los menores de 15 años. La infección entre humanos es poco habitual.



Cadena epidemiológica y área endémica de la Fiebre Hemorrágica Argentina

Manifestaciones clínicas
El período de incubación es de 7 a 11 días, luego del cual, la enfermedad se manifiesta la aparición gradual o repentina de síntomas sistémicos que se puede confundir con cualquier síndrome febril inespecífico. Predomina la fiebre continua de 39 a 40 °C, escalofríos, malestar, astenia, cefalea, dolor retroorbital, anorexia, náuseas, vómitos y dolor muscular.

Los signos pueden incluir conjuntivitis, edema facial, enantema con vesículas faríngeas, exantema de la cara, cuello y parte superior del tórax, hipersensibilidad de los muslos, poliadenopatías cervicales y petequias que son más frecuentes en la región axilar.
Se caracteriza principalmente por la leucopenia, trombocitopenia y albuminuria. Estos signos se hacen más intensos al final de la primera semana cuando aparece deshidratación, hipotensión arterial y bradicardia relativa. Cuando se manifiestan hemorragia gingival, nasal, gástrica, intestinal, uterina y de vías urinarias, indican una diátesis hemorrágica grave que puede conducir al shock. Algunos pacientes pueden presentar síntomas y signos relacionados con la afección del sistema nervioso central, como excitación psicomotriz, convulsiones y coma.

Tratamiento
Lo mas importante son las medidas de apoyo que incluyen el equilibrio hidroelectrolítico y resultan eficaces los expansores plasmáticos si se utilizan al inicio. El plasma humano inmune específico para el virus de Junín administrado durante los primeros 8 días reduce la mortalidad de 15-30 % a 1 % .

Diagnóstico
Se puede determinar la IgM o IgG específicas usando ELISA y la prueba de neutralización por reducción de placas (PRNT). El ácido nucleico vírico también se puede determinar en el cuadro agudo por medio de la reacción en cadena de la polimerasa-transcriptasa inversa (RT-PCR).
El virus puede ser aislado en la sangre del paciente durante esta etapa, así como de otros tejidos obtenidos de la necropsia si el paciente fallece.

Profilaxis
Existe una vacuna con virus vivo y atenuado, la Candid 1, que se aplica a la población expuesta. La Candid 1 demostró ser segura e inmunogénica, con una eficacia de 95,5 % en hombres de 15 a 65 años de edad.

Fiebre hemorrágica venezolana
Su agente causal se conoce también como “Guaranito” y es transmitido por roedores. Se observó por primera vez en el año 1989 cuando se produjo un brote de fiebre con manifestaciones hemorrágicas graves en la localidad de Guaranito, con una mortalidad elevada. Su reservorio son los roedores, ratas algodoneras Sigmodon aldoni y las de la caña de azúcar Zygodontomys brevicaudas.Se transmite al humano al ponerse en contacto con las excretas o con las secreciones bucales de los transmisores, también penetra por las úlceras y excoriaciones de la piel. No se reporta la transmisión de humano a humano.

Clinicamente, se caracteriza por cefalea de moderada a gran intensidad, dolores retrooculares, congestión conjuntival, fiebre elevada de 39 °C, acompañada de abundante sudoración y estado grave de postración. Se pueden presentar eritemas en la cara, cuello y parte superior del tórax, así como petequias y equimosis. Las formas graves producen hemorragias intensas.

Tratamiento
Aislamiento estricto del paciente mientras dure el cuadro febril. Se toman medidas antichoque, así como tratmiento de apoyo.

Diagnóstico
Determinación de IgM y detección de anticuerpos neutralizantes por el método de ELISA. Detección del virus mediante aislamiento viral o PCR.

Fiebre hemorrágica por hantavirus
El género hantavirus pertenece a la familia Bunyaviridae y comprende a varios virus: virus Hantaan, virus Dobrava, virus de Puumala, virus Sin Nombre, el virus de Seúl y otros hantavirus afines. Todos, son virus ARN, de polaridad negativa, esféricos y miden de 90 a 120 nm de diámetro.
Los Hantavirus se transmiten mediante roedores, a diferencia de los otros géneros de esta familia que se transmiten a través de artrópodos. Son hospedados y diseminados horizontalmente de roedor a roedor. Poseen gran especificidad de especie virus-roedor, lo que permite ubicar los virus en las zonas habitadas por su hospedador.
Los Hantavirus no producen viremia prolongada ni enfermedad manifiesta en el roedor hospedador. Se encuentran en la orina, saliva y las heces del ratón y el hombre se contagia sobre todo a través de la inhalación de aerosoles de las excretas de los roedores, fundamentalmente orina. Los pacientes infectados no son contagiosos.
Se han descrito dos enfermedades producidas por los hantavirus: la fiebre hemorrágica con síndrome re-

nal (FHRS) y el síndrome pulmonar por hantavirus (HPS).

Fiebre hemorrágica con síndrome renal
Tiene un período de incubación de 9 a 35 días. La mayor parte de los casos se producen entre la población rural. Esta forma de la infección está muy extendida en Europa (virus Puumala) y Asia (virus Hantaan). El virus Dobrava (Balcanes) y el Hantaan (Asia rural) producen una fiebre hemorrágica con síndrome renal grave. El virus de Seúl (mundial) y el de Puumala producen una HFRS leve o moderada. La infección por el virus de Puumala, causa más frecuente de HF con síndrome renal en Europa, produce un cuadro clínico mucho más atenuado y se conoce con el nombre de nefropatía epidémica. La fiebre hemorrágica con nefropatía, en su forma más grave, evoluciona en 4 estadios: fase febril, fase de hipotensión, fase oligúrica y fase poliúrica.

El diagnostico se hace mediante la detección de IgM con la técnica de ELISA, que es positiva en las primeras 48 h. El aislamiento del virus es difícil pero si se necesita el diagnóstico definitivo, se realiza el análisis de PCR en una muestra de sangre

Síndrome pulmonar por hantavirus
El período de incubación es de 7 a 28 días. Tiene una alta mortalidad (40-50 %) y se distribuye por el continente americano. Los virus causales del síndrome pulmonar por hantavirus son hantavirus asociados con la subfamilia de roedores Sigmodontinae. Las especies de roedores tienen características propias, por algunos habitan en o cerca de las viviendas de los humanos. Algunos virus, como el virus de los Andes, provocan la enfermedad en Sudamérica pero a este se le ha atribuido una infección directa de persona a persona.
La enfermedad se presenta con fiebre, mialgias, malestar y náuseas, vómitos y dolor abdominal, los cuales duran 3 o 4 días. Le sigue la fase pulmonar, que se manifiesta por tos, hipotensión ligera, taquicardia, taquipnea e hipoxemia ligera. El examen físico del aparato respiratorio puede revelar signos radiográficos tempranos de edema pulmonar. En las horas siguientes la descompensación se acentúa rápidamente hasta producir hipoxemia intensa con insuficiencia respiratoria, la hipotensión puede llevar al choque. La mayoría de los pacientes que logran “sobrevivir” las 48 h de hospitalización son extubados y egresados sin secuelas.

Diagnóstico
Los métodos de diagnóstico serológico son los preferidos para diagnosticar la infección por Hantavirus, Así, se pueden realizar distintas pruebas, como ELISA, SIA, Western blot o inmunofluorescencia indirecta para detectar la presencia de anticuerpos específicos IgM
Para el diagnóstico de los síndromes producidos por Hantavirus que causan una infección más grave se pueden utilizar técnicas de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa anidada para detectar material genético del virus. Sin embargo, esta técnica solo sería útil en los primeros días de la infección porque posteriormente el virus desaparece de la sangre. Esta técnica permite el diagnóstico autópsico de tejidos de un paciente fallecido.

Bibliografia

• Fiebres hemorragicas virales. Actualizaciòn, diagnóstico y tratamiento.Ernesto Peña yAna Liz Porto. Editorial ECIMED. Año 2010.
• https://www.who.int/topics/haemorrhagic_fevers_viral.
• https://www.paho.org›id=8306:2013-fiebre-hemorragica-argentina.

Capítulo 22
Infecciones cutáneo mucosas

Introducción

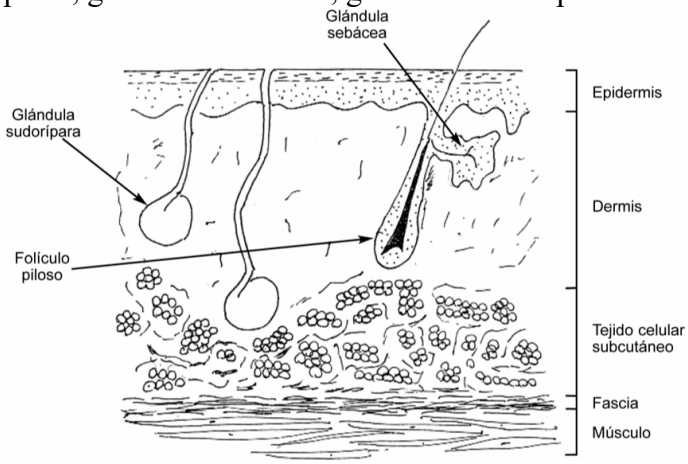
Las infecciones de piel y tejidos blandos constituyen la segunda causa de consultas clínicas luego de las infecciones de las vías respiratorias.

Comprenden desde infecciones leves (foliculitis) hasta cuadros severos (gangrena gaseosa).

Son producidas por bacterias, virus, hongos o parásitos.

La frecuencia de estas patologías puede explicarse porque la piel al estar en contacto con el medio ambiente está expuesta a diversos microorganismos y a factores que alteran su estructura (traumatismos, cirugías).

Afin de comprender mejor la fisiopatogenia de estas infecciones es conveniente recordar las peculiaridades anatómicas de la piel. Su estructura consiste de la epidermis, dermis e hipodermis (tejido celular subcutáneo). Dentro de los anexos cutáneos se incluyen: pelos, glándulas sebáceas, glándulas sudoríparas.



Los mecanismos defensivos de la piel son variados. Entre ellos encontramos la presencia de la microbiota normal que impide la colonización por otras bacterias, aunque en ciertas circunstancias también puede actuar como patógena. Los agentes bacterianos aerobios más
importantes de la microbiota normal de la piel son: Staphylococcus spp. y Corynebacterium spp. y los anaerobios Propionibacterium acnes.

Fisiopatogenia

Los microorganismos pueden ingresar a la piel y a los tejidos blandos:

· Desde el exterior debido a la pérdida de la integridad de la barrera cutánea (heridas, quemaduras, picaduras de insectos, cirugías, utilización de catéteres percutáneos).

· Desde el interior por contigüidad a partir de los tejidos subyacentes o transportados por la sangre o la linfa.

Clasificación

Las infecciones de la piel y tejidos blandos pueden dividirse en 3 clases:

Primarias:

Aparecen en piel previamente sana. Generalmente se manifiestan por entidades clínicas características y son producidas por un único microorganismo. De acuerdo al origen de los microorganismos pueden producir:

a) Afectación únicamente de la piel, a partir de donde podrían extenderse por contigüidad o por diseminación hematógena a distancia.

b) Diseminación local a partir de un foco contiguo (por ejemplo: osteomielitis subyacente).

c) Diseminación hemática como consecuencia bacteriemia (por ejemplo: meningococcemia, sífilis secundaria, tuberculosis).

Secundarias:

Aparecen sobre la piel dañada (quemaduras, heridas). Habitualmente son producidas por múltiples microorganismos.

Lesiones de piel producidas por mecanismos inmunológicos o tóxicos

No existe compromiso infeccioso directo (por ejemplo: endocarditis bacteriana: eritema nudoso, escarlatina por Streptococcus pyogenes).

Según su localización se clasifican:

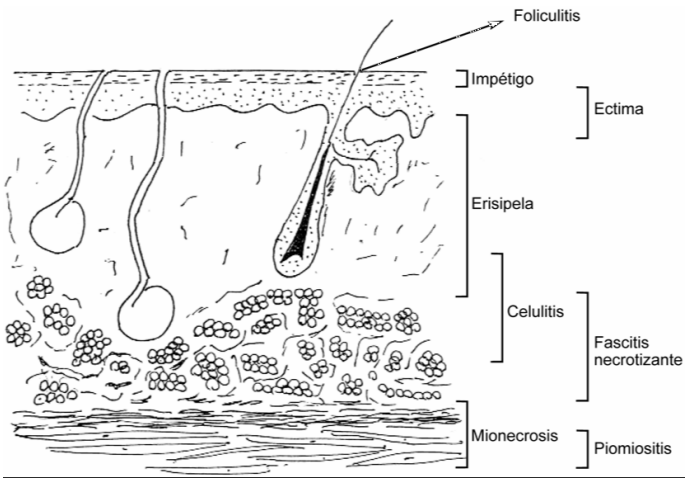
-Piel.....piodermitis
(impétigo, foliculitis, forunculosis, ántrax).
- Tejido celular subcutáneo.....celulitis
- Fascias.....fascitis
- Músculo.....miositis

Agentes etiológicos

Bacterias

·Impétigo

Staphylococcus aureus (en todas las edades)



Streptococcus pyogenes (principalmente en niños).
Streptococcus spp. (grupos C y G).
Streptococcus agalactiae (en neonatos).

· Foliculitis
Staphylococcus aureus
Pseudomonas aeruginosa (asociada a piletas)

· Forúnculos Antrax
Staphylococcus aureus

· Celulitis
Staphylococcus aureus
Streptococcus pyogenes
Haemophilus influenzae serotipo b (en menores de 5 años).
Enterobacterias (pacientes diabéticos e inmu nosuprimidos).
Streptococcus spp. (grupos B, C y G).

· Celulitis anaerobia, fascitis necrotizante y mionecrosis (no producidas por clostridios)
Etiología mixta (anaerobios más aerobios)
Anaerobios:
Bacteroides spp.
Cocos Gram positivos anaerobios
Aerobios:
Enterobacterias
Streptococcus spp.
Staphylococcus spp.
Streptococcus pyogenes (gangrena estreptocócica o fascitis necrotizante)

· Celulitis anaerobia y mionecrosis
Clostridium perfringens (gangrena gaseosa)
"Las infecciones severas en general son de etiología mixta (polimicrobianas) y se denominan infecciones sinergísticas".

Impétigo:
El impétigo es una infección cutánea superficial causada tanto por estreptococos como por estafilococos. Es una enfermedad muy contagiosa que se ve con frecuencia en los niños, sobretodo en la edad preescolar (2 a 5 años).
Se caracteriza por la aparición de una o más lesiones ulceradas en la piel, casi siempre cubiertas por una costra de color miel. Las úlceras no duelen espontáneamente pero sí cuando se tocan. Se puede afectar cualquier área cutánea del cuerpo, pero aparecen normalmente en la cara, alrededor de la boca, nariz y oídos, y también en brazos y piernas.
Las áreas infectadas adquieren presentaciones clínicas diferentes como enrojecimiento, hinchazón, ampollas llenas de pus que cuando se revientan, el líquido se seca para formar una costra de color miel.
El tratamiento del impétigo consiste en la cura de las úlceras manteniéndolas en agua para ablandar las costras y retirarlas para aplicar una pomada con ATM, unas tres o cuatro veces al día, hasta que la úlcera desaparezca en aproximadamente una semana. En algunos casos, es necesario administrar ATM por vía oral o parenteral. Si no se trata el impétigo puede originar diversas complicaciones.

Foliculitis:
Corresponde a una de las infecciones que se produce por la íntima atracción que existe entre Staphylococcus aureus y el folículo pilo sebáceo. De menor a mayor compromiso, pueden definirse como foliculitis superficial, foliculitis profunda, furúnculo y ántrax. Son más bien raros en los primeros meses de vida, aumentado su frecuencia a medida que el niño aumenta de edad y se van desarrollado los folículos pilosos.
El forúnculo es una infección cutánea que compromete todo el folículo piloso y el tejido subcutáneo adyacente.
Los forúnculos son muy comunes y son ocasionados por Staphylococcus aureus, aun-que también pueden ser provocados por otras bacterias. Las lesiones en el folículo piloso permiten que las bacterias penetren profundamente en los tejidos del folículo y en los tejidos subcutáneos. Los forúnculos pueden originarse en el folículo piloso de cualquier parte del cuerpo, pero son más comunes en la cara, cuello, axila, nalgas e ingle.

Esta condición puede empezar en forma de un nódulo o pequeña pápula. subcutánea roja y sensible que en última instancia se vuelve fluctuante (tétrada de Celso).
Un forúnculo puede drenar espontáneamente.
Los forúnculos pueden ser individuales o múltiples y algunas personas tienen episodios recurrentes de abscesos difíciles de prevenir. Los forúnculos que se presentan en áreas como el canal auditivo o la nariz pueden ser muy dolorosos; un médico debe tratar estos últimos. Los forúnculos que se desarrollan con cierta proximidad pueden expandirse y agruparse.
El ántrax es una inflamación localizada en el tejido subcutáneo generalmente produci-da por estafilococos.

Ectima:
Es una piodermia profunda que se observa con cierta frecuencia en niños, especialmente en las extremidades inferiores y en las nalgas. El agente que la produce es Streptococcus pyogenes.
Comienza de una forma similar al impétigo común, pero se extiende más profundamente penetrando la capa de la epidermis. Aparece como una vesícula rodeada por un halo rojo que aumenta de tamaño hasta llegar a los 3 o 4 cm.
Posteriormente se forma una costra amarilla grisácea rodeada periféricamente por un collar de piel desprendida que al caer deja una úlcera de profundidad variable con aspecto en "sacabocado", de borde indurado, de color rojo violácea y de base granu-lomatosa que se extiende hacia la profundidad. La lesión es muy dolorosa y encierra cierto peligro si no es tratada a tiempo.

Celulitis:
Corresponde a una inflamación aguda y diseminada del tejido celular subcutáneo que tiene como agentes etiológicos Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Haemophilus influenzae y otras bacterias como los miembros de la familia Enterobacteriaceae.
Cuando existe una lesión previa en la piel, estas bacterias pueden penetrar causando infección y reacción inflamatoria. Los tejidos de la piel en el área infectada se tornan rojizos, calientes, irritados y dolorosos.
La celulitis es más común en el rostro y en la parte baja de las piernas aunque la piel de otras áreas del cuerpo puede resultar comprometida algunas veces.
Frecuentemente existen antecedentes de lesiones cutáneas que en 24 a 48 horas se complican con dolor y enrojecimiento seguidas de compromiso del estado general.

Celulitis gangrenosa:
Es una celulitis rápidamente progresiva con extensa necrosis de piel y tejido celular subcutáneo. Los cambios patológicos de la celulitis gangrenosa son necrosis y hemorragia de la piel y tejido subcutáneo. En la celulitis gangrenosa hay un exudado con abundantes leucocitos polimorfonucleares y con importante exudado, lo que no ocurre en otras afecciones cutáneas graves. En la mayoría de los casos, se ha desarrollado en forma secundaria a la introducción del microorganismo infeccioso en el sitio infectado, aunque también puede ser el resultado de la extensión de la infección desde un sitio más profundo hasta afectar los tejidos subcutáneos y la piel. Puede tener varias presentaciones clínicas:

1) Gangrena estreptocócica:
Generalmente ocurre en enfermos diabéticos o tras cirugía abdominal, y la lesión es una necrosis de tejido subcutáneo y fascia, con aspecto quemado, necrótico, negro de piel y subyacente. Principalmente producida por Streptococcus pyogenes, cuando se desarrolla de manera secundaria a cirugía abdominal y también cuando están involucradas bacterias entéricas.
La linfangitis es raramente evidente, y hay una necrosis extensa que puede penetrar a planos profundos y ocurrir bacteriemias y focos metastásicos si la terapia antibiótica no es correcta.

2) Gangrena sinergística bacteriana progresiva:
Generalmente originada por Streptococcus pyogenes y S. aureus, se caracteriza por una úlcera necrótica irregular rodeada por margen oscuro y periferia eritematosa, con dolor intenso y extensión progresiva. Generalmente ocurre tras una cirugía abdominal con infección de la herida por proximidad de ileostomía o colostomía o drenaje, y se caracteriza por febrícula y afectación del estado general.
La excisión de los tejidos necróticos y la administración de ATM constituyen el trata-miento de elección.

3) Celulitis anaerobia por Clostridium spp.:
Es una infección necrotizante por bacterias de este género, de tejidos subcutáneos desvitalizados, asentando sobre todo en heridas sucias y anfractuosas y en zonas contaminadas por flora fecal como el periné, región glútea, extremidades inferiores y pared abdo-

minal. La fascia profunda no se afecta y por lo general no existe miositis asociada.
Las especies de clostridios, habitualmente el Clostridium perfrigens, se introducen en los tejidos subcutáneos a través de una herida traumática sucia o con inadecuado desbridamiento por medio de la contaminación quirúrgica o por infección localizada preexistente.
El período de incubación es de varios días, con inicio gradual, aunque con posterioridad el proceso puede diseminarse rápidamente. Dolor local, tumefacción tisular y toxicidad sistémica no son características frecuentes.
Es característica una supuración oscura escasa (achocolatada), a veces maloliente de la herida, al igual que la formación extensa de gas tisular. Se presenta crepitación franca y puede extenderse mucho más allá de los límites de la infección. Se presenta una moderada afectación sistémica, con tumefacción pronunciada y una decoloración amarillo bronceada de la piel y zonas negro-verdosas de necrosis y secreción serosanguinolenta.
Como dijimos, Clostridium perfringens es la especie mas común responsable de esta infección, pero se ha aislado Clostridium septicum y otras especies.
El tratamiento consiste en el desbridamiento y drenaje quirúrgico del pus tras amplia abertura de la herida. La penicilina a altas dosis por vía endovenosa es de clara indicación, asociada a clin-damicina hasta tanto se tenga el antibiograma adecuado.

4) Celulitis anaerobia no clostridiana:
Es de etiología mixta, causada por Bacteroides spp. y Peptostreptococcus spp. con participación a veces de microorganismos aerobios.

5) Celulitis necrotizante sinérgica:
Es una infección mixta, común en pacientes con alguna enfermedad de base que oca-siona úlceras con eritema periférico, siendo características la marcada toxicidad sistémica y la escasa crepitación.

El dolor es intenso y se observa gas en cantidad importante en los tejidos de los pacientes. También llamada gangrena cutánea por Gram negativos, es una variante de la fas-citis necrotizante en la que hay afectación de la piel, tejido subcutáneo y fascia y en estadios avanzados se puede afectar el músculo. Los factores predisponentes incluyen la diabetes, la obesidad y la edad avanzada, localizándose la mayoría de las infecciones en los miembros o en el periné (por abscesos perirrectales) y ocasiona úlceras con eritema periférico.
Son características la marcada toxicidad sistémica y la escasa crepitación. Origina una secreción en “agua de fregar platos” maloliente, copiosa y espesa de zonas diseminadas de necrosis cutánea. La infección es mixta y sinérgica entre bacterias anaerobias y enterobacterias. Suele ocurrir a nivel anorrectal, urogenital o cutáneo.
La lesión se manifiesta con pequeñas úlceras cutáneas, existiendo además zonas cir-cunscritas de gangrena gris azulada con necrosis de tejidos subyacentes, fascia y músculo.
Anaerobios como Peptococcus spp., Peptostreptococcus spp. , Bacteroides spp., y bacterias anaerobias facultativas como Klebsiella spp., E. coli, Enterobacter spp. y Proteus spp. son los responsables directos de esta patología.

6) Mucormicosis cutánea necrotizante:
Ocurre en pacientes con terapia esteroidea, diabetes o transplantados. Habitualmente ocurre una zona de necrosis central negra con margen elevado, púrpura y también puede presentarse como una úlcera negra, siendo un hongo el agente causal de la misma.

7) Celulitis gangrenosa bacteriémica por Pseudomonas spp.:
Generalmente ocurre en en pacientes con quemaduras y pacientes con inmunosupre-sión, originando una zona necrótica bien demarcada con escara negra y eritema circundante que semeja una úlcera por decúbito y puede evolucionar desde una ampolla hemorrágica inicial a una celulitis dolorosa.
La celulitis con dolor y supuración maloliente es la manifestación más habitual de las infecciones por mordeduras mordeduras. No obstante puede haber un daño más profundo y producir bacteriemias. La bacteriemia por Pseudomonas spp. puede también producir una celulitis gangrenosa.

8) Celulitis gangrenosa en paciente inmunocomprometido: Fascitis necrotizante:
Es una infección poco común de las partes blandas, usualmente causada por bacterias virulentas que producen toxinas y que se caracterizan por afectar a la fascia superficial, tejido subcutáneo, grasa subcutá-

nea con nervios, arterias y venas y fascia profunda. Esta denominación incluye a todos los procesos difusos de los tejidos blandos que se acompañan de necrosis a excepción de la mionecrosis por Clostridium spp. Se acompaña de dolor local, fiebre y toxicidad sistémica y es a menudo fatal si no se diagnostica y trata con prontitud, con una mortalidad que alcanza el 30 -50% de los pacientes.

Virus

· Virus Herpes Simplex tipo 1
· Virus Herpes Simplex tipo 2
· Virus Varicela - Zoster
· Virus Papiloma Humano (VPH)

Los agentes virales que ingresan a partir de la piel producen en general infecciones persistentes en su hospedero. Resulta necesario resaltar el papel de los epitelios en la persistencia de los agentes virales por ser un sitio no vascularizado al que, el sistema inmune, accede con limitaciones.
El Virus Herpes Simplex tipo 1 y el Virus Herpes Simplex tipo 2 infectan inicialmente las células epiteliales, migrando luego por el axón de la neurona que inerva la zona comprometida para persistir en las neuronas infectadas. Se transmiten por el contacto con las lesiones.

El Virus Varicela-Zoster es otro miembro de la Familia Herpesviridae y es el agente etiológico de dos enfermedades: (a) la varicela (b) el herpes zoster.
La varicela es una infección generalmente benigna en el hospedero inmunocompetente caracterizada por una erupción vesicular en piel y mucosas. Como consecuencia de esta primoinfección el virus persiste en el huésped, en las neuronas de los ganglios sensitivos.
El herpes zoster es una reactivación del mismo agente viral que persistía en las neuronas, el cual inicia nuevamente sus ciclos replicativos provocando, en la zona inervada por el ganglio sensitivo, lesiones vesiculares en piel. El principal mecanismo de transmisión del Virus Varicela-Zoster es la vía respiratoria, y en menor frecuencia por las lesiones en piel.

El Virus Papiloma Humano es otro agente que ingresa por microtraumatismos en epitelios queratinizados o mucosos, infectando persistentemente a su hospedero. Algunos tipos virales están asociados a cáncer anogenital.

Algunas consideraciones especiales

Los anaerobios como causa de enfermedad
Estas infecciones se caracterizan en un alto porcentaje por ser polimicrobianas (aerobios y anaerobios) y producidas por bacterias que forman la microbiota endógena del hombre. Todos los sistemas u órganos pueden estar involucrados en las infecciones anaeróbicas como los abscesos intraabdominales, pulmonares, hepáticos y de cerebro; infecciones crónicas pleuropulmonares; infección ginecológica.

Infecciones anaeróbicas
Clínicamente las infecciones por anaerobios comparten ciertas características las que hacen sospechar al médico la presencia de ellos.

· Olor fétido.
· Pus achocolatado.
· Presencia de gas en los tejidos (crepitación).
· Infección contigua a una membrana mucosa.
·Tejido necrótico.
· Presencia de “gránulos de azufre” (Actinomyces spp.).

1. **Recolección, Transporte y conservación de la muestra clínica:**
La muestra clínica dependerá de los tipos de lesión que se encuentren en la piel, a saber:

· Vesículas
· Pústulas
· Abscesos
· Celulitis
· Gangrena
· Trayectos fistulosos
· Heridas abiertas.

El resultado confiable de un diagnóstico dependerá de la correcta toma y conservación de la muestra.

Requisitos
· Son preferibles los aspirados y trozos de tejidos y no los hisopados
· Evitar la contaminación con la microbiota normal realizando una correcta antisepsia
· Volumen suficiente
· Medios de transporte adecuados (tanto para bacterias aerobias como anaerobias)
La mayoría de las bacterias aeróbicas sobreviven en

atmósfera anaeróbica, pero las bacterias anaeróbicas mueren rápidamente en presencia de oxígeno. La muestra debe ser inoculada en un medio de transporte anaeróbico o transportada en la misma jeringa que fue tomada por aspiración pero con la boca sellada. La colocación de un tapón de goma en la aguja para evitar la entrada de oxígeno, es una conducta que dejó de utilizarse por normas de bioseguridad.

2. **Procesamiento de laboratorio**

Diagnóstico Bacteriológico
Todas las muestras obtenidas de tejidos blandos deben procesarse para el aislamiento de bacterias aerobias y anaerobias.

a. Examen directo: la coloración de Gram muestra tanto los agentes aerobios con sus características morfológicas, tintoriales y de disposición como el típico pleomorfismo de las bacterias anaerobias, presencia de esporas y tinción irregular. Generalmente, estos últimos, vistos en la coloración de Gram, no desarrollan en los cultivos aeróbicos de rutina.

b. Cultivo: en este sentido los medios de cultivo más utilizados son los enriquecidos (agar sangre, agar chocolate) para aerobios y el caldo de tioglicolato para anaerobios.
Las bacterias anaerobias estrictas tienen requerimientos especiales de aislamiento que incluyen el uso de sistemas de anaerobiosis como las jarras anaeróbicas, las cuales le brindan la atmósfera adecuada.

c. Identificación de los microorganismos aerobios y anaerobios.

d. Pruebas de sensibilidad para bacterias aerobias.

Diagnóstico virológico
En el caso de virus el diagnóstico de la infección por los integrantes de la Familia Herpesviridae puede realizarse a partir del raspado de las lesiones (vesículas) y posterior aislamiento e identificación del agente. La respuesta inmune puede ser de utilidad en la búsqueda de anticuerpos, ya sea por una seroconversión o respuesta de tipo Ig M específica.
El diagnóstico microbiológico de la infección por Virus Papiloma Humano (VPH) se basa en métodos directos como reacciones de hibridación con ácidos nucleicos mar-cados en muestras de biopsias, lo cual presenta gran importancia para determinar el tipo de VPH. El virus no es cultivable y la respuesta inmune, al parecer, poco importante.

3. **Interpretación de los resultados**
El problema bacteriológico de estas infecciones es complejo. Como ya mencionamos la flora es a menudo mixta, y el aislamiento de una especie de la lesión no garantiza siempre el que éste sea el agente causal, más aún si tenemos en cuenta que el paciente nos llega con frecuencia después de un tiempo de evolución en el que ha sido tratado con antimicrobianos y la microbiota puede haberse modificado.

Bibliografía
• Murray, P., Baron, E. et al. 1999. Manual of Clinical Microbiology. ASM press. 7th. Edition. Washington DC, USA.
• Littvik, A y col. 2008. Tras las Huellas de un Mundo Invisible. Sima Editora 4ª Ed. Córdoba, República Argentina.
• Jawetz et al. Microbiología Médica. Editorial McGraw Hill. 25ª Ed. 2010.
• Forbes, B., Sahm, D. et al. 2009. Bailey & Scott. Diagnóstico Microbiológico. Ed. Panamericana. 12va. Edición. Buenos Aires, República Argentina.

Capítulo 23
Lepra (enfermedad de Hansen)

"*Las cuatro paredes del pabellón contienen los sueños postergados de quienes alguna vez quisieron conocer el mundo en su plenitud, de aquellos para los que respirar el aire de la libertad y el cariño de una familia fue tan sólo una oportunidad efímera, frágil o ausente. Todos sufren el mal de Hansen, más conocido como lepra, una palabra que ni el aire se anima a pronunciar. Y mucho menos ellos, seres humanos marginados, discriminados y abandonados durante años por el sólo hecho de estar enfermos, o más bien por tener que soportar la cruz de la ignominia que una sociedad temerosa e intolerante impuso a sus espaldas*"
(Lepra, aún un estigma para quienes la padecen. Ángeles Buteler. La Voz del Interior. 6/08/2001)

El gran escultor brasileño conocido como "Aleijadinho" (diminutivo de la palabra portuguesa "aleijado" que significa "el que se aleja") padecía la enfermedad. Había perdido, a raíz de la misma, sus pies y manos pero continuaba esculpiendo. Para ello se ataba cincel y martillo a los muñones. Sus esculturas en piedra jabón (pedra sabão) se pueden apreciar en los museos e iglesias de la ciudad de Ouro Preto en el estado de Minas Gerais (patrimonio de la humanidad), Brasil.

La Enfermedad

En mayor medida que otras enfermedades infecciosas, la lepra, ha sido históricamente temible de forma especial y ha conducido a importantes estigmas sociales.

Es una enfermedad infectocontagiosa crónica producida por Mycobacterium leprae, un bacilo acidoresistente. Afecta principalmente la piel, mucosas de vías respiratorias altas, los nervios periféricos y los ojos. Aunque no es muy contagiosa, la lepra se transmite por gotitas nasales y orales cuando hay un contacto estrecho y frecuente con enfermos no tratados. El contacto de piel a piel, que antes era considerado un mecanismo de transmisión importante es poco probable ya que los microorganismos no se encuentran en la epidermis o en las capas más superficiales de la dermis. Solo cuando hay reacciones lepromatosas importantes con exfoliación de la epidermis puede haber salida directa del germen.

M. leprae se multiplica muy despacio y el periodo promedio de incubación de la enfermedad es de cinco años. En algunos casos los síntomas pueden aparecer en 1 año, pero también pueden tardar hasta 20 años.

Puede manifestarse con un amplio espectro de formas clínicas, desde la lepra paucibacilar con escasas lesiones localizadas y baja concentración bacteriana, hasta la lepra multibacilar con lesiones generalizadas, elevada concentración bacteriana y posibilidad de comprometer órganos internos. La forma clínica adquirida depende de la inmunidad celular del huésped, cuando esta es mínima, se desarrollará una forma lepromatosa (multibacilar) y cuando es adecuada, una forma tuberculoide (paucibacilar).

Los signos más destacados de la lepra son zonas de piel rojiza o pálida con pérdida de la sensibilidad; adormecimiento de las manos o los pies; debilitamiento de los párpados; los nervios dolorosos o sensibles a la palpación; bultos en la cara o los lóbulos de las orejas. A la palpación puede tocarse la hipertrofia de los nervios periféricos.

La lepra es curable con un tratamiento multimedicamentoso (TMM) o poliquimioterapia (PQT). Si se trata en las primeras fases, se evita la discapacidad. Si no se trata, la lepra puede causar lesiones progresivas y permanentes en la piel, los nervios, las extremidades y los ojos. En 1981 la OMS recomendó el TMM, que consiste en la administración de 2 o 3 fármacos: dapsona y rifampicina (droga bactericida) para todos los pacientes, a los que se añade clofazimina en caso de enfermedad multibacilar. Esta última combinación elimina el patógeno y cura al paciente. Desde 1995, la OMS proporciona TMM gratuito a todos los enfermos del mundo con lepra.

La eliminación significa reducir el número de casos a cantidad muy pequeña. Esto llevará a la reducción de la fuente de infección, de modo que la lepra irá desapareciendo naturalmente, como ya ocurrió en muchas partes del mundo. La OMS ha definido la eliminación como una tasa de prevalencia de menos de 1 caso por 10.000 habitantes.

La eliminación de la lepra como problema de salud pública se logró en todo el mundo en 2000. A lo largo de los últimos 20 años se han tratado con TMM más de 16 millones de pacientes con lepra.

Durante 2008, sólo 17 países notificaron más de 1000 nuevos casos. Esos países representan el 94% de los casos nuevos detectados a nivel mundial durante ese año. Actualmente la lepra está circunscrita a África,

Asia, y América Latina. No hay que desatender esas zonas problemáticas aún pendientes, y deben tomarse medidas enérgicas para conseguir eliminar la lepra como problema de salud pública a nivel mundial, nacional y local.

Armauer Hansen, médico noruego, descubrió en 1876 el bacilo causante de la lepra.

Lepra en Argentina

La lepra en Argentina se caracteriza por su moderada endemicidad y su focalización en determinadas áreas geográficas. Se desconoce porque predomina más en algunos lugares que en otros, pero se la suele asociar con los lugares cálidos y húmedos, así como también con las condiciones de extrema pobreza. Las provincias que integran el área endémica son: Buenos Aires, Chaco, Córdoba, Entre Ríos, Formosa, Jujuy, Misiones, Salta, Santiago del Estero, Santa Fe y Tucumán. Las áreas de mayor endemicidad corresponden a las provincias del Noreste Argentino, con tasas de prevalencia entre 1-3/10000 habitantes.

Cabe destacar que las jurisdicciones de la ciudad de Buenos Aires y conurbano bonae-rense, operativamente se consideran como una unidad. Esta área concentra una importante cantidad de casos, ya que se suman a los autóctonos, los procedentes de las provincias endémicas del interior como resultado del dinamismo de las migraciones internas.

En la provincia de Córdoba la tasa de prevalencia es 0.36 casos/10000 habitantes, pero existe una mayor prevalencia en los departamentos de San Justo y Río Primero.

Microorganismo

Mycobacterium leprae pertenece a la familia Mycobacteriaceae y al género Mycobacterium. Comprende bacilos rectos o ligeramente curvos aerobios, no móviles, no esporulados, no capsulados, que no forman parte de la flora normal.

La pared celular es rica en lípidos lo que hace difícil visualizarlo con la coloración de Gram, por este motivo se tiñe con la coloración de Ziehl-Neelsen, visualizándose como un bacilo rojo, a veces con granulaciones, sobre un fondo azul,como todo bacilo ácido-alcohol resistentes. Pueden agruparse dentro de macrófagos denominándose a estas formaciones "globis" o paquetes de cigarrillos.

Es una bacteria de división celular lenta (12-24 horas) pero no crece en cultivos artifi-ciales. Hasta el día de hoy que no se lo ha podido cultivar, pero sí inocular en animales de laboratorio (almohadilla plantar de ratón) reproduciendo la enfermedad y obteniendo el bacilo de las lesiones.

Mycobacterium leprae presenta una triple cubierta rica en polisacáridos externos y un peptidoglicano que forman parte de la pared que rodea al citoplasma. El peptidoglicano, arabinogalactano y ácidos micólicos le dan integridad a la pared pero no inmuno-genicidad. En cambio, otros glucolípidos como el glucolípido fenólico I (PGL-I) ha demostrado ser especie específico e inmunogénico durante la infección por esta bacteria.

Se comporta como un parásito intracelular obligado que se multiplica de forma muy lenta dentro de los macrófagos mononucleados, en especial los histiocitos de la piel y de las células de Schwann de los nervios, presentando una gran afinidad por los mis-mos. Posee varios antígenos de superficie y citoplasmáticos, algunos de las cuales son comunes a otros bacilos ácido-alcohol resistentes (micobacterias, nocardias). Las proteínas desencadenan una reacción de sensibilidad tardía que se pone de manifiesto a través de la intradermorreacción de Fernández, similar a la de tuberculina. El PGL-I es un importante antígeno, del cual se ha evaluado su utilidad para el diagnóstico por una técnica de ELISA.

Fisiopatogenia

La lepra se transmite en forma directa (contagio interhumano).

El contagio se efectúa cuando hay un contacto frecuente y prolongado entre un enfer-mo bacilífero y un hospedero susceptible. Por lo tanto, son tres las condiciones para que se produzca el contagio:

1-Paciente bacilífero: es aquél que presenta bacilos infectantes en sus fosas nasales y piel. Es casi siempre una forma clínica cercana al polo lepromatoso. cuando se instaura el tratamiento rápidamente el paciente se convierte en no bacilífero.

2-Hospedero susceptible: es aquél con cierto grado de inmunocompromiso.

3-Contacto íntimo y prolongado: la definición operativa de contacto es: "la persona que convive bajo un mismo techo y efectúa por lo menos una comida en común" o "la persona que convive no menos de cuarenta horas semanales". A esto se le tiene que agregar un período prolongado de tiempo. Es por esto que se dice que la lepra es la "menos contagiosa de las enfer-

medades infecciosas".

Las vías de transmisión son aérea y cutánea. La primera estación del bacilo en el nuevo hospedero es la ganglionar, donde se cumple la primera etapa de la infección (período de incubación) que dura desde meses hasta cinco o más años. Durante ella se establece una "lucha silenciosa" entre el bacilo y el sistema retículo endotelial. El resultado de esa lucha puede ser:
• Destrucción total del bacilo (90%): no desarrolla la enfermedad.
• Destrucción parcial con desarrollo de inmunidad celular, desarrolla formas tuberculoides.
• No hay destrucción bacilar por falla en la inmunidad celular (1%): Desarrolla formas lepromatosas.
Cuando el bacilo vence los mecanismos de defensa se produce la diseminación hematógena y linfática invadiendo piel, nervios periféricos y en algunas formas clínicas el resto del organismo (ojos, hígado, testículos).

Algunas consideraciones clínicas
La lepra tiene un período de incubación prolongado de 2 a 7 años.
Las primeras lesiones pueden pasar inadvertidas si no se piensa en ella por la epide-miología. Las tres cuartas partes de los pacientes con una lesión solitaria curan, pero en algunos la infección progresa.
Lepra Tuberculoide (LT): es la forma clínica más frecuente y la más benigna. Presenta lesiones dermatológicas eritematosas maculares o papulares. Además, puede presentar afección de los nervios periféricos con disminución de la sensibilidad cutánea. Hay formas sin lesiones cutáneas y sólo afección de nervios periféricos llamada forma neural. No produce síntomas respiratorios superiores y puede curar espontáneamente. Se acompaña de baciloscopía negativa de las lesiones y reacciones de Fernández y Mitsuda positivas.
Lepra intermedia o borderline: son formas mixtas entre la LT y LL (formas polares). No cura espontáneamente.
Lepra Lepromatosa (LL): es la forma más grave y contagiosa. Presenta lesiones cutá-neas más importantes y mayor afección de los nervios periféricos. Lo más característico es la presencia de nódulos cutáneos simétricos y engrosamiento de la dermis. Hay afección respiratoria alta con infiltrado de microorganismos en la mucosa nasal (congestión nasal crónica y epistaxis). Puede llevar a la destrucción del cartílago del tabique nasal (nariz en "silla de montar"). La afección de los nervios es generalizada y simétrica produciendo anestesia distal de las manos y de los pies. La baciloscopía generalmente es positiva y las reacciones de Fernández y Mitsuda son negativas, fre-cuentemente.

Clasificación
Es muy importante la clasificación correcta de los casos de lepra porque permite emitir un pronóstico más o menos favorable identificando los casos con mayor o menor riesgo de desarrollar deformidades y establecer los casos con posibilidades de conta-giar. Por otro lado la elección del esquema y duración del tratamiento dependen de ello.
Clasificación de Ridley y Jopling se basa en el grado de actividad de la enfermedad, los hallazgos clínicos, histopatológicos e inmunológicos. En base a ellos se distinguen cinco formas de lepra:

• Lepra Tuberculoide (LT)
• Lepra Intermedia o Borderline o Tuberculoide (BT)
• Lepra Intermedia o Borderline Borderline (BB)
• Lepra Intermedia o Borderline Lepromatosa (BL)
• Lepra Lepromatosa (LL)

Solo las formas LT y LL son formas estables y llamadas polares. El resto son inesta-bles, ya que un paciente con BT, en ausencia de tratamiento, puede retrogradar o avanzar. La enfermedad puede evolucionar de un polo hacia el otro dependiendo del estado inmunológico del paciente y del tratamiento establecido.

Clasificación de la Organización Mundial de la Salud
Es una clasificación eminentemente operativa, agrupa a los enfermos según su baciloscopía, es la utilizada y recomendada por el Programa Nacional de Control de Lepra, dado que orienta con respecto al esquema terapéutico a utilizar. Los enfermos se clasifican en dos grandes grupos:
• Lepra PB (Paucibacilar): paciente con menos de 5 lesiones cutáneas y/o baciloscopía (-).
• Lepra MB (Multibacilar): pacientes con más de 5 lesiones cutáneas y/o baciloscopía (+).

Diagnóstico
Los pilares del diagnóstico de la lepra son: la clínica,

la epidemiología y el diagnóstico bacteriológico: la baciloscoscopía y la prueba de la lepromina, a lo cual se suma la anatomía patológica como examen complementario.
Clínicamente las manifestaciones más frecuentes son la falta de sensibilidad cutánea y el engrosamiento de los nervios periféricos, hiperestesia, hormigueos, disminución de fuerza, lesiones cutáneas o mucosas.
Es importante conocer si el paciente procede o no de área endémica y antecedentes de contactos con otros enfermos de lepra.

Diagnóstico bacteriológico
Dentro del mismo el examen directo por Coloración de Ziehl - Neelsen es uno de los más importantes, ya que aprovecha la propiedad del bacilo de retener la colorante fucsina frente al decolorante alcohol-ácido.
En la práctica sólo se realiza baciloscopia de piel y mucosa nasal. En casos de LL se realizará baciloscopia de biopsia cutáneas de nódulos o placas.

Diagnóstico directo
1. Baciloscopia de piel:
Toma de muestra
En los pacientes con lesiones activas, se obtiene varias muestras de esas lesiones y de ambos lóbulos de las orejas. En los pacientes con lesiones no visibles se deben tomar como mínimo siete muestras: dos de ambos lóbulos de las orejas, dos de la cara dorsal de ambos antebrazos, dos de la cara anterior de ambos muslos y uno de la mucosa nasal. Se debe realizar un corte con bisturí de los bordes o centro de las lesiones, previa antisepsia de la piel, tomando entre los dedos pulgar e índice el sitio sobre el cual se realizará.
Una vez realizado el corte se raspan los bordes internos del mismo hasta recolectar linfa y pulpa del tejido y se lleva a un portaobjetos.
La mucosa nasal debe ser raspada contundentemente por la cara interna del tabique con un hisopo.
Procesamiento de la muestra:
Se realiza mediante la coloración de Ziehl-Neelsen que se denomina baciloscopía. En ella se busca la presencia de BAAR en objetivo de 100X. Los mis¬mos se pueden observar como bacilos enteros, fragmentados o en acúmulos denominados globis. La baciloscopía sirve para diagnóstico y seguimiento del tratamiento.
2. Cultivo:
El microorganismo no es cultivable en medios artificiales, por ende, deben buscarse otros métodos para comprobar la viabilidad del mismo. Esos métodos se basan en propiedades biológicas como Inoculación en la almohadilla plantar del ratón. Estos ratones al ser inoculados hacen una lesión circunscripta y autolimitada luego de un período largo (meses), por lo cual es una técnica objetiva y específica pero no es de utilidad para diagnóstico de rutina. Las almohadillas plantares son utilizadas para realizar cortes histológicos y baciloscopía. La presencia de BAAR en cualquiera de los animales es suficiente para confirmar el diagnóstico.
3. Diagnóstico molecular por amplificación de ácidos nucleicos:
Existen evidencias que la PCR en la biopsia de piel es una prueba diagnóstica con buena especificidad y sensibilidad. La desventaja la alta tecnología y los costos.

Diagnóstico Indirecto:
Tener en cuenta que la inmunidad adquirida es más bien celular que humoral. Los pacientes con LT presentan una fuerte hipersensibilidad de tipo retardada a la lepromi-na. A medida que avanza la enfermedad se va perdiendo la hipersensibilidad. La lepro-mina es una suspensión de bacilos inactivados por calor.
Cuando se inyecta en forma subcutánea se producen dos tipos de reacciones:
1- Una reacción temprana llamada reacción de Fernández, se manifiesta por un halo eritematoso a las 24-48 horas. Indica una sensibilidad del individuo a los componentes de M. leprae.
2- Una reacción tardía, reacción de Mitsuda, que aparece a la tercer o cuarta sema-na como un nódulo indurado en el lugar de la inyección.
Las pruebas de hipersensibilidad cutánea no sirven para el diagnóstico, solo tienen valor pronóstico. Los pacientes con LT suelen presentar los dos tipos de reacción, tanto temprana como tardía, lo que constituye uno de los criterios de LT. Los pacientes con LL son anérgicos a los componentes del bacilo, por lo cual estas pruebas son negativas. Al comienzo de la enfermedad dan negativas, en las formas BT suelen dar positivas y en las BL negativas.
Es importante la reacción de la lepromina en los contactos de enfermos de lepra, ya que una reacción positiva indica resistencia a la enfermedad. Si en ellos la reacción da negativa, indica susceptibilidad a desarrollar la enfermedad.
Existen también pruebas serológicas que permiten detectar anticuerpos (inmunidad humoral) mediante pruebas como FLA - abs (test de absorción de anti-

cuerpos leprosos fluorescentes), RIA y ELISA.
La detección precoz de los datos y el tratamiento multimedicamentosos seguirán siendo elementos neurálgicos de la estrategia de control de la lepra.

Bibliografía

• Organización Mundial de la Salud (OMS), Oficina Regional de la OMS para el Sudeste Asiático. Estrategia mundial para la lepra 2016–2020: Acelerar la acción hacia un mundo sin lepra. Nueva Delhi, 2016.
• OMS. Consejo ejecutivo EB126/41 126, 2010.
• Pautas para la prevención, diagnóstico y tratamiento de la Lepra. ANLIS, INE. Ministerio de Salud, Presidencia de la Nación Argentina.
• Eichelmann K, González González SE, Salas-Alanis JC, Ocampo-Candiani J. Leprosy. An Update: Definition, Pathogenesis, Classification, Diagnosis, and Treatment. Actas Dermosifiliogr, 2013.
• Sushma Tatipally, Aparna Srikantam and Sanjay Kasetty Polymerase Chain Reaction (PCR) as a Potential Point of Care Laboratory Test for Leprosy Diagnosis—A Systematic Review. Tropical Medicine and Infectious Disease, september 2018.

Capítulo 24
Infecciones osteoarticulares

Introducción

Las infecciones osteoarticulares (osteomielitis, artritis e infecciones asociadas a implantes) son importantes al estar asociadas a un difícil manejo médico-quirúrgico y a numerosas complicaciones, a pesar de ser poco frecuentes.

Plantean importantes retos diagnósticos y de tratamiento que deben ser abordados de forma multidisciplinar con la colaboración de distintos especialistas, sobre todo si se trata de infecciones asociadas a implantes.

En general, su diagnóstico requiere una completa aproximación clínica y hasta el momento se ha basado en datos radiológicos, de medicina nuclear, en resultados de anatomía patológica y, microbiológicamente, en la tinción de Gram y el cultivo. Siendo este último la forma más eficaz de conocer al agente etiológico, permitiendo en sí, la instalación de la terapéutica antimicrobiana adecuada para disminuir las importantes complicaciones que pueden derivar de un diagnóstico y tratamiento tardíos.

Artritis

La infección de las articulaciones puede ser producida por múltiples causas infecciosas y no infecciosas.

Tanto las articulaciones nativas como las enfermas o protésicas son susceptibles de infección; sin embargo, es más frecuente en las dos últimas condiciones.

Factores del huésped pueden predisponer al desarrollo de artritis, como diabetes, inmunosupresión, adicción a drogas por vía parenteral, e infección por VIH, neoplasias, infecciones cutáneas.

La principal causa de infección aguda de las articulaciones la constituyen las bacterias, seguidas de los virus.

En las formas crónicas deben considerarse micobacterias y hongos.

Además, la artritis puede ocurrir como fenómeno secundario de tipo inmunológico en el contexto de una infección en otro sitio del organismo; éstas se denominan artritis reactivas y postinfecciosas.

Artritis supurativa, piógena o séptica

La artritis de etiología bacteriana es la más común y también más grave de las enfermedades articulares; se la considera una urgencia infectológica.

El diagnóstico microbiológico de este cuadro reviste gran importancia por la rápida destrucción de la articulación con pérdida irreversible de la funcionalidad.

El tejido sinovial es muy vascularizado y carece de membrana basal limitante, lo que lo torna susceptible a la llegada de bacterias durante una bacteriemia. Por lo tanto, la principal vía de acceso de los microorganismos es la vía hematógena. También pueden ingresar por inoculación directa, durante una cirugía, traumatismos; o acceder por contigüidad desde el tejido o hueso adyacentes.

En los adultos, el principal agente causal es Staphylococcus aureus (75% de los casos) y Streptococcus pyogenes y otros estreptococos beta hemolíticos (S. agalactiae es causa importante de artritis en individuos con enfermedades de base). Una causa frecuente en mujeres sexualmente activas es N. gonorrhoeae, en el contexto de una infección gonocócica diseminada.

En un 5-20% de los pacientes, se encuentran bacilos Gram negativos como E. coli (neonatos, ancianos, inmunocomprometidos y adictos a drogas por vía parenteral); P. aeruginosa es un destacado patógeno en este último grupo de pacientes.

Otras causas menos frecuentes de artritis hematógena son: Kingella kingae y H. influenzae (niños menores de 2 años), Salmonella spp., N. meningitidis, Brucella spp., Mycoplasma hominis y Ureaplasma urealyticum.

Pueden dar artritis por contigüidad tras mordedura de perro: Pasteurella multocida y Capnocytophaga spp.; y luego de mordedura humana, Eikenella corrodens y Fusobacterium nucleatum.

La mayoría de los pacientes se presentan con fiebre, dolor en la articulación e impotencia funcional. Es más frecuente el compromiso monoarticular, siendo la rodilla la articulación más afectada, seguida de la cadera y el hombro. Las localizaciones sacroilíaca o esternoclavicular aparecen principalmente en adictos a drogas intravenosas. En la artritis gonocócica es frecuente la afectación interfalángica y poliartralgia con tenosinovitis.

En la fisiopatología de la infección, interviene la adhesión y colonización de los microorganismos en la membrana sinovial, con posterior proliferación en el líquido sinovial e infección resultante, y aparición de respuesta inflamatoria por parte del huésped.

Aunque se ha demostrado que el ADN y algunos productos bacterianos como las toxinas (alfa hemolisina de S. aureus) producen lesión articular en forma

directa, es relevante conocer que la mayor parte del daño está producido por dicha respuesta inmunológica.

Diagnóstico microbiológico

Se realiza por estudio del líquido sinovial, el cual se obtiene por punción - aspiración con antisepsia previa de la piel.

En el caso de sospechar artritis por micobacterias la muestra ideal es el tejido sinovial obtenido por biopsia.

En ocasiones, estos procedimientos deben ser guiados por ecografía, resonancia magnética nuclear o tomografía computada, sobre todo cuando se afectan articulaciones de difícil acceso como las articulaciones de la cadera, hombro y sacroilíaca.

El líquido articular se debe enviar inmediatamente al laboratorio, donde se le efectuarán análisis fisicoquímico y bacteriológico. Se conservará a temperatura ambiente.

El análisis del líquido es de gran importancia; usualmente es turbio o purulento, y contiene más de 50.000 glóbulos blancos/mm3, de los cuales más del 80% son leucocitos polimorfonucleares. Los valores de glucosa y proteínas carecen de sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de artritis séptica.

Para el estudio microbiológico, se procederá a la centrifugación del líquido sinovial, para luego realizar examen directo y cultivo.

El examen microscópico directo por coloración de Gram puede orientar el tratamiento empírico, siendo positivo en el 50-70% de las artritis por cocos Gram positivos, 50% de las causadas por bacilos Gram negativos, y en menos del 25% de las artritis gonocócicas.

Se realizará además coloración de Ziehl-Neelsen, y también se observará una gota del material en fresco, consignando la reacción inflamatoria, hematíes y cristales.

Para el cultivo, se utilizan medios enriquecidos, como agar sangre y agar chocolate, que permiten recuperar los patógenos mencionados anteriormente.

El diagnóstico microbiológico de artritis gonocócica es dificultoso debido a la baja sensibilidad de los cultivos, siendo la recuperación en el líquido sinovial menor al 50%. Los cultivos de lesiones en piel y de sangre en la infección gonocócica diseminada son en general negativos.

Es importante conocer que la extracción de hemocultivos puede contribuir al diagnóstico microbiológico, ya que son positivos en el 50-70% de los casos.

Artritis viral

Los virus pueden causar artritis de modo directo, al infectar la membrana sinovial, o indirecto mediante respuestas de tipo inmunológico del huésped.

Los virus capaces de producir afección articular son: Rubéola, Parvovirus, Parotiditis, Hepatitis B (debido a inmunocomplejos circulantes), Coriomeningitis Linfocitaria, Virus de la Inmunodeficiencia Humana Adquirida, HTLV, Alfavirus, Virus Herpes Simplex, Citomegalovirus.

En general comprometen varias articulaciones, presentan inflamación sin supuración, y tienen curso benigno y autolimitado.

El diagnóstico es por serología (detección de anticuerpos específicos).

Artritis infecciosa crónica

Abarca una serie de infecciones monoarticulares, o con menos frecuencia oligoarticulares, que se caracterizan por comienzo insidioso y evolución indolente, pocos síntomas y destrucción progresiva de las estructuras de la articulación.

También llamada artritis subaguda o crónica, suele deberse a micobacterias (M. tuberculosis, M. marinum con antecedente de traumatismo en el agua) u hongos, o a bacterias como Borrelia burgdorferi (Enfermedad de Lyme) o Tropheryma whipplei (enfermedad de Whipple), Treponema pallidum y Nocardia spp.

El diagnóstico de artritis por micobacterias se realiza por examen directo y cultivo del tejido sinovial obtenido por biopsia, o del líquido aspirado por punción de la articulación.

En casos de microorganismos particulares, como B. burgdorferi y T. whipplei, el diagnóstico se hace por detección de anticuerpos e histopatología, respectivamente.

Artritis reactivas o postinfecciosas

Estas artritis suelen observarse luego de infecciones entéricas (Salmonella spp., Shigella spp., Campylobacter spp., Yersinia spp.) o de transmisión sexual (C. trachomatis); existe evidencia de predisposición genética.

No existe una prueba serológica ni microbiológica definitiva para hacer diagnóstico de los patógenos involucrados en esta categoría. Por lo tanto, se sospechará

ante una artritis aguda estéril posterior a cuadros de infección gastrointestinal o genitourinaria. Además, generalmente suele haber uveítis o conjuntivitis y afección de la articulación sacroilíaca.

Osteomielitis

Es una infección caracterizada por la progresiva inflamación y destrucción del hueso, con necrosis y neoformación ósea (secuestro). Su tratamiento es sumamente difícil, ya que erradicar la infección implica la esterilización del hueso, por lo cual se requerirá un adecuado diagnóstico microbiológico.

El hueso es una estructura altamente resistente a la infección. Para que se genere una infección en el tejido óseo debe existir un alto inóculo bacteriano, traumatismos o la presencia de un cuerpo extraño.

Además, el microorganismo en cuestión debe poseer ciertas propiedades: adherirse a la matriz ósea como lo es S. aureus que posee adhesinas para unirse a receptores presentes en el hueso (fibronectina, sialoproteínas, colágeno y laminina) y persistir en forma intracelular.

Las citoquinas liberadas luego de la invasión bacteriana participan en los fenómenos de destrucción y neoformación ósea; mientras que las enzimas de los leucocitos polimorfonucleares generan radicales de oxígeno y liberación de enzimas proteolíticas que también contribuyen al daño. Se produce entonces necrosis del tejido y formación del secuestro.

La infección de las estructuras óseas puede presentarse en forma aguda o crónica, y aunque ambas formas clínicas están causadas por los mismos agentes etiológicos, tienen evolución y tratamiento diferentes.

La osteomielitis puede deberse a la diseminación por contigüidad a partir de articulaciones y tejidos adyacentes infectados, por diseminación hematógena o por inoculación directa de microorganismos durante traumatismos o cirugía.

La enfermedad del adulto en su forma aguda suele aparecer con dolor importante y fiebre; mientras que en la forma crónica el paciente refiere dolor inespecífico en la zona afectada, en ocasiones con formación de fístulas, pero sin signos ni síntomas sistémicos.

Los cuadros originados por vía hematógena son monomicrobianos, a diferencia de los que son consecuencia de infecciones adyacentes, que casi siempre tienen etiología polimicrobiana.

El microorganismo aislado con mayor frecuencia en todos los cuadros de osteomielitis, independientemente de su origen o fisiopatología es Staphylococcus aureus.

En neonatos, son más frecuentes S. aureus y estreptococos; los bacilos Gram negativos, de los cuales P. aeruginosa es uno de los más frecuentes, producen infecciones en ancianos y casi siempre participando de infecciones en contigüidad o trás cirugía.

Las Enterobacterias producen osteomielitis en pacientes con neoplasias o colagenopatías o enfermedades de base.

En los casos en que se aíslan anaerobios, B. fragilis es el más frecuente, y son infecciones mixtas, que se dan en pacientes con diabetes, isquemia o con mordeduras humanas.

La osteomielitis también puede ser causada por hongos y micobacterias.

Dentro de estas últimas, resulta de especial interés mencionar la osteomielitis tuberculosa, producida por diseminación hematógena en la mayoría de los casos, y que a veces constituye la única manifestación de la enfermedad sistémica. Las localizaciones más habituales son la columna vertebral (mal de Pott), cadera y rodilla.

Diagnóstico microbiológico

La muestra ideal para el estudio microbiológico es el tejido óseo obtenido durante una cirugía, o bien material recogido por punción-aspiración (biopsia) guiado por tomografía computada, resonancia magnética nuclear o ecografía.

Las muestras serán remitidas al laboratorio de microbiología teniendo en cuenta que se trata de tejidos nobles. En caso de sospecharse participación de anaerobios, se colocarán en los medios de transporte adecuados. Si se sospechan micobacterias, podrán conservarse en heladera.

En los pacientes con osteomielitis aguda, es útil la realización de hemocultivos.

Se realizarán examen directo por coloración de Gram y de Ziehl-Neelsen, ésta si fuere solicitada.

Se utilizarán medios de cultivo enriquecidos, como agar sangre y agar chocolate, y caldo de tioglicolato para investigación de anaerobios; si se sospechara infección por M. tuberculosis se usará el medio de Lowestein-Jensen.

Es importante saber que las cepas aisladas de osteomielitis deben conservarse en el laboratorio para eventual realización de pruebas de sensibilidad especiales (poder bactericida del suero, velocidad bactericida del suero), generalmente solicitadas para monitoreo o seguimiento del tratamiento antimicrobiano

en algunos pacientes.

Infecciones protésicas

Una prótesis es un elemento artificial, fabricado para reemplazar las superficies de articulaciones que se han dañado por diversas causas.

La cirugía de colocación de prótesis articular es una práctica común en nuestros días, dados los excelentes resultados que se logran al restablecer la función articular y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Sin embargo, las articulaciones protésicas, como ya mencionáramos, son especialmente susceptibles a la infección.

Como cuerpos extraños que son, las prótesis metálicas y el cemento de polimetilmetacrilato (material que se utiliza para unir la aleación metálica al hueso adyacente), favorecen el desarrollo de focos de infección tanto en el espacio interarticular como en el tejido óseo; en general, éstos suelen iniciarse en la interfase hueso - cemento.

De acuerdo al momento de aparición desde la cirugía, se llaman tempranas, intermedias y tardías. La mayoría se produce dentro del primer año.

Existen rigurosas normas y medidas de prevención a seguir para evitar este tipo de complicaciones, pero una vez que se ha desarrollado el proceso infeccioso, éste tiene graves consecuencias para el paciente.

Otros factores predisponentes para infección de una prótesis articular son: cirugía previa, obesidad, artritis reumatoidea, diabetes, edad avanzada, corticoides.

La principal vía de acceso de los microorganismos es la inoculación directa durante la cirugía (microbiota del propio paciente o del equipo quirúrgico, o del medio); otra es por infección desde el sitio adyacente; y hay un pequeño porcentaje que se produce por diseminación hematógena.

El polimetilmetacrilato inhibe la fagocitosis y el complemento, y constituye un espacio avascular en el cual, un pequeño inóculo, puede iniciar una infección. Además, muchos patógenos como S. aureus, son capaces de producir sustancias de naturaleza exopolisacárida (biofilmes), que les permite adherirse a la superficie del material y crecer formando una matriz. Éste es un mecanismo que favorece la persistencia del microorganismo e impide la acción de los mecanismos de defensa del huésped y de los antimicrobianos.

La forma más común de presentación de la infección protésica es con dolor continuo en la articulación afectada. La fiebre no siempre está presente, y en forma variable pueden aparecer signos de inflamación y trayectos fistulosos con supuración.

El 70% de las infecciones son monomicrobianas.

Los principales agentes etiológicos son: estafilococo coagulasa negativa, S. aureus, estreptococos y bacilos Gram negativos.

Diagnóstico microbiológico

El diagnóstico microbiológico de la infección protésica se logra mediante el aislamiento del agente causal a partir de la articulación comprometida, del cemento o del hueso.

Las muestras se recogen por punción-aspiración del líquido articular o directamente en cirugía, obteniendo múltiples materiales (para optimizar la recuperación del patógeno): líquido articular, cemento, hueso y tejidos periarticulares. Una vez obtenidas, deben transportarse con rapidez al laboratorio para su procesamiento.

Se realizará examen directo por coloración de Gram y cultivo en medios enriquecidos. Luego de la identificación del agente, se realiza el antibiograma.

Es muy importante un estrecho diálogo con el médico tratante para la correcta interpretación de los resultados y la instauración del tratamiento, ya que en ciertos casos e independientemente de la sensibilidad del microorganismo, la prótesis deberá extraerse y luego cambiarse para erradicar la infección.

Bibligrafía

• Murray, P., Baron, E. et al. 1999. Manual of Clinical Microbiology. ASM press. 7th. Edition. Washington DC, USA.

• Littvik, A y col. 2008. Tras las Huellas de un Mundo Invisible. Sima Editora 4ª Ed. Córdoba, República Argentina.

• Jawetz et al. Microbiología Médica. Editorial McGraw Hill. 25ª Ed. 2010.

• Forbes, B., Sahm, D. et al. 2009. Bailey & Scott. Diagnóstico Microbiológico. Ed. Panamericana. 12va. Edición. Buenos Aires, República Argentina.

Capítulo 25

Infecciones asociadas al cuidado de la salud

"La terrible sangria de vidas que ocasionaba la fiebre puerperal terminó con un simple lavado de manos"

Etiología, concepto y profilaxis de la fiebre puerperal (The Etiology, Concept, and Prohylaxis of Childbed Fever, 1860) La presente es una versión extractada y resumida de la original en alemán).
Ignaz Semmelweis

"E*l gran hospital de maternidad vienés, cuyos servicios son gratis, está dividido en dos clínicas: a una se le llama primera, a la otra segunda, todos los estudiantes varones fueron asignados a la primera clínica y todas las estudiantes mujeres a la segunda. Desde el momento en el cual la primera clínica comenzó a formar exclusivamente a obstetras en el mes de junio de 1847, la tasa de mortalidad en la primera clínica era constantemente superior a la de la segunda clínica, en la cual solo recibían enseñanza las matronas.*
-La diferencia en la mortalidad entre las clínicas era realmente mayor por motivos que se considerarán,
-¿Cuál es el origen, entonces, de la diferencia en la mortalidad entre ambas clínicas?
-Las pacientes cuyo período de dilatación se prolongó durante 24 horas o más, invariablemente se enfermaban inmediatamente al dar a luz o al cabo de las primeras 24 ó 36 horas posteriores al parto. Morían pronto por la fiebre puerperal de rápida evolución. Un período igualmente prolongado de dilatación en la segunda clínica no resultaba peligroso.
-No solamente morían las madres, sino también los recién nacidos, tanto varones como mujeres. Con la excepción de las zonas genitales, las lesiones anatómicas en los cadáveres de estos recién nacidos son las mismas que las lesiones en los cadáveres de las mujeres que morían por fiebre puerperal. Si las pacientes de la maternidad y los recién nacidos mueren de la misma enfermedad, entonces la etiología que explica las muertes de las madres debe explicar también las muertes de los recién nacidos Debido al gran tamaño de Viena, las mujeres que estaban en trabajo de parto frecuentemente dan a luz en la calle o en los portales de las casas, antes de que puedan llegar al hospital, a estos partos se los denomina partos de la calle.
Las mujeres que dieron a luz en la calle contrajeron fiebre puerperal con una tasa significativamente más baja que las que dieron a luz en el hospital de maternidad. Sería lógico pensar que las pacientes que dieron a luz en la calle se enfermaran al menos tan frecuentemente como las que lo hicieron en la clínica. Se nombró, en la Facultad de Medicina de Viena, una comisión para, entre otras cosas, recopilar tal cuadro.
Cambié mis proyectos de viaje y, acompañado por dos amigos, salí para Venecia el 2 de marzo de 1847. Esperaba que los tesoros artísticos venecianos reanimaran mi mente y espíritu, los que habían sido tan gravemente afectados por mis experiencias en el Hospital de Maternidad.
El 20 marzo del mismo año unas horas después de mi vuelta a Viena, volví a ocupar el puesto de asistente en la primera clínica.
La historia clínica era la siguiente: Kolletschka, Profesor de Medicina Forense, había fallecido. Frecuentemente realizaba autopsias con fines legales en presencia de estudiantes. Durante uno de estos ejercicios, un estudiante le hirió un dedo con el mismo bisturí que se estaba utilizando para la autopsia. El Profesor contrajo linfangitis y flebitis (inflamación de los ganglios linfáticos y de las venas, respectivamente) de las extremidades superiores. Luego, mientras yo estaba todavía en Venecia murió de pleuresía bilateral, pericarditis, peritonitis y meningitis. Pocos días antes de morir también se le formó una metástasis en un ojo. La enfermedad por la cual murió Kolletschka era idéntica a la que había causado la muerte de tantos centenares de pacientes de maternidad. Las pacientes de maternidad también habían contraído linfangitis, peritonitis, pericarditis, pleuresía y meningitis y también se formaron metástasis en muchas de ellas. La excitante causa que había ocasionado la muerte del Profesor Kolletschka era conocida; era la herida producida por el bisturí de la autopsia, el cual se había contaminado por partículas de cadáveres.
Debido a la orientación anatómica de la escuela médica vienesa, los profesores, asistentes y estudiantes tienen oportunidades frecuentes de tener contacto con cadáveres. Un lavado ordinario con jabón no es

suficiente para quitar todas las partículas de cadáveres adheridas. Esto está probado por el olor cadavérico que se retiene en las manos durante más tiempo. En el examen de las embarazadas o parturientas, las manos, contaminadas con partículas de cadáveres, entran en contacto con los genitales de estas mujeres, y se produce la posibilidad de transmisión. Supongamos que las partículas de cadáveres adheridas a las manos ocasionan la misma enfermedad entre las pacientes de maternidad que la que causaron en Kolletschka las partículas de cadáveres adheridas al bisturí, entonces hay que examinar a las pacientes con los dedos, pero que no contengan estas partículas, así la enfermedad debería disminuir.

Para eliminar las sustancias cadavéricas adheridas a las manos utilicé chlorina liquida. Este uso se inició a mediados de mayo de 1847; ahora no recuerdo el día exacto. Se exigió que tanto los estudiantes como yo mismo nos laváramos las manos antes de los exámenes. Después de algún tiempo dejé de utilizar la chlorina liquida debido a su alto precio, y adopté la cal clorada que era más barata. Durante la segunda quincena de mayo de 1847 se introdujeron por primera vez los lavados clorados., y en ese mes murieron 36 pacientes, durante los siete meses siguientes la tasa de mortalidad fue inferior a la de las pacientes de la segunda clínica. El sistema de la formación de las matronas está establecido de tal forma que las alumnas e instructores tienen menos oportunidades de contaminar sus manos con sustancias cadavéricas, que es el caso de la primera clínica, porque no van a la morgue. Así pues, la causa endémica desconocida de los horribles estragos en la primera clínica eran las partículas cadavéricas adheridas a las manos de los examinadores.

Para eliminar las sustancias cadavéricas se hizo necesario que cada examinador se lavara con cal clorada al entrar en la sala de partos. Puesto que los estudiantes en la sala de partos no tenían la oportunidad de volver a contaminar sus manos, creí que un lavado era suficiente. Dentro de la sala de partos parecía innecesario lavar las manos con agua clorada entre exámenes. Una vez que las manos se habían limpiado de partículas de cadáveres, no podían contaminarse de nuevo.

Pero sucedió, que en octubre de 1847 se admitió a una paciente con carcinoma de útero. Se le asignó la cama por la cual siempre comenzaba la visita. Después de examinar a esta paciente, los examinadores se lavaron las manos solamente con jabón. La consecuencia fue que de las 12 pacientes que estaban en trabajo de parto en aquel momento, 11 murieron. La secreción del carcinoma no se eliminó con agua y jabón. Se hizo evidente que era necesario limpiarse las manos con agua clorada, no sólo después de manipular los cadáveres sino también después de los exámenes durante los cuales las manos puedan contaminarse con secreciones.

Concepto

Se denomina INFECCIONES HOSPITALARIAS (IH) o NOSOCOMIALES, término que hoy fue reemplazado por "Infecciones Asociadas al Cuidado de la Salud" (IACS) a aquellas infecciones que son adquirida por los pacientes durante la hospitalización, que no estaban presentes; ni en el período de incubación, ni en el momento del ingreso al centro hospitalario; cuyas manifestaciones clínicas se presentan durante la internación, por lo menos 48 horas luego de la misma, o después del alta médica.

Según National Healthcare Safety Network (NHSN) es una condición localizada o sistémica que resulta de una reacción adversa a la presencia de un agente infeccioso o a una de sus toxinas que ocurre:

- En un paciente en una institución de salud
- La cual no estaba presente o incubándose en el momento de la internación

También pueden ser adquiridas por pacientes ambulatorios, personal del equipo de salud, alumnos y visitantes. Esto sucede cuando no se toman las adecuadas medidas de bioseguridad.

Epidemiología

Las IACS se presentan en todas las instituciones para cuidados de los pacientes, independientemente del tamaño y del tipo de población de pacientes. Los avances en la tecnología médica y los sistemas de mantenimiento de la vida han originado un aumento en el número de pacientes internados en estado de gran compromiso inmunológico, los cuales son de alto riesgo para la adquisición de IACS.

Las IACS son responsables de una morbilidad y mortalidad significativa, a lo que se suma el aumento de los días de hospitalización, con el consiguiente incremento del costo económico, generando problemas médico-asistenciales, éticos-legales y de relaciones interpersonales. Aproximadamente el 90% de las IACS son endémicas y el 10% se presentan como brote epidémico. Pero lo importante es que el 20-30%

de las IACS son prevenibles.

Fisiopatogenia

Existe una gran confusión respecto al uso de estos términos por lo que se hace fundamental aclararlos:

La contaminación se refiere a la presencia de microorganismos sobre y dentro de las superficies inanimadas y materiales (ropa, agua, alimentos).

La colonización hace referencia a la adquisición de microorganismos a partir del ambiente hospitalario o del personal de salud que formarán parte del microbiota del paciente, constituyendo un riesgo para la adquisición de infecciones.

La infección se refiere a la entrada y proliferación de microorganismos en un hospedero con afección de los tejidos conduciendo a enfermedad o incapacidad.

La cadena infecciosa está formada por seis eslabones, es fundamental su conocimiento para el control de las IACS.

Reservorio: se denomina así al portador del agente infeccioso. Una persona que está colonizada simplemente o que presenta ya la enfermedad infecciosa.

Puerta de salida: medio a través del cual los organismos infecciosos abandonan su reservorio por ejemplo el aparato respiratorio mediante tos o estornudos.

Medios de transmisión: ruta que siguen los microorganismos expulsados de su reservorio para llegar a un nuevo hospedero.

Puerta de entrada: medio a través del cual los microorganismos logran penetrar en un nuevo hospedero.

Hospedero susceptible: el eslabón final de la cadena es otro paciente, pero también puede ser un personal de salud o una visita.

El hospital debe conocer estos eslabones para controlar la incidencia de infecciones hospitalarias. Hay que poner especial énfasis a conocer cuáles pueden ser las puertas de entrada ya que constituye un factor de riesgo importante, por ejemplo: los procedimientos quirúrgicos, los catéteres intravenosos, las sondas urinarias, la diálisis, los respiradores mecánicos, las maniobras invasivas, prótesis en general.

Los factores del hospedero que predisponen a la Infección hospitalaria pueden corresponder a la edad: pacientes neonatos, pediátricos y ancianos son particularmente susceptibles; la inmunidad especifica: los pacientes pueden carecer de anticuerpos protectores contra algunas enfermedades como: sarampión, varicela, tos ferina; enfermedad subyacente: diabetes, cáncer, neutropenia, por si mismas o por su tratamiento, igualmente las infecciones vírales, como gripe, VIH/SIDA; los traumatismos que puedan alterar los mecanismos de defensa: quemaduras, accidentes, catéteres intravenosos y urinarios, diálisis, cirugías.

Las fuentes de microorganismos infectantes pueden ser:

1- humana por autoinfección (microbiota endógena) o a partir de otros pacientes colonizados o infectados, o del personal hospitalario (infección cruzada) donde las manos juegan un rol importante en la transmisión;

2- ambiental: a partir de objetos (fómites), alimentos, agua, desinfectantes, o aire contaminado (ventiladores, respiradores).

Mecanismos de transmisión

Las vías para la diseminación de la infección en los hospitales son las comunes a todas las infecciones: aire, contacto (directo o indirecto) y diversos vehículos. La vía aérea transmite microorganismos por las gotitas de Phlügge, microgotas de los estornudos o de la tos.

Contacto: directo (manos): ocurre por el contacto con la superficie del cuerpo el cual transfiere microorganismos desde una persona colonizada o infectada (reservorio) a un huésped susceptible; indirecto: ocurre entre un huésped colonizado o infectado a otro huésped susceptible a través de objetos intermediarios inanimados, tales como instrumentos, endoscopios, agujas, o ropa contaminada.

Vehículo: es el que transporta los gérmenes, ejemplo: los enteropatógenos se pueden transportar por alimentos, el VHB o el VIH por medio de sangre y productos hematológicos.

Las IACS más comunes son:

Localización	Factor contribuyente	Agente
ITU	Sondas	• *Escherichia coli*
Neumonía	Ventilación asistida	• *Pseudomonas aeruginosa* • *Staphylococcus aureus* • Enterobacteriaceae
Heridas quirúrgicas		• *Staphylococcus spp.*
Bacteriemia	Catéteres intravenosos	• *Staphylococcus* coagulasa (-)
Hepatitis	Transfusiones Hemodiálisis	• Virus Hepatitis B (VHB) • Virus Hepatitis C (VHC)
Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida	Transfusiones Hemodiálisis	• Virus de la Inmunodeficiencia Humana
Gastroenteritis		• Rotavirus
Infecciones respiratorias		• Virus Respiratorio Sincitial • Virus Influenza
Infecciones por Herpes Virus	Pacientes inmunosuprimidos	• Virus Herpes Simplex tipo 1 y tipo 2 • Virus Varicela-Zoster

Microorganismos Intrahospitalarios

Un agente infeccioso puede ser una bacteria, virus, hongo o parásito. La mayor parte de las IACS se asocian a una agentes bacterianos o micóticos. Hay dos tipos principales de bacterias que causan IACS: cocos Gram-positivos (ejemplo, Staphylococcus y Streptococcus) y bacilos Gram-negativos (ejemplo, Acinetobacter, Pseudomonas, Enterobacter y Klebsiella).

Existen géneros bacterianos que con mayor frecuencia se asocian a estas infecciones hospitalarias, pero lo más característico es su resistencia a diversos grupos de antimicrobianos, por lo cual se denominan multirresistentes. El fenómeno por el cual estos microorganismos que viven dentro de ambientes hospitalarios se convierten en agentes resistentes a diversos antimicrobianos resulta de la presión de selección que ejercen los diferentes regímenes de antibióticos que son administrados en unidades de cuidados intensivos, de cuidados intermedios, incluso en salas de internación.

Los grupos de microorganismos de mayor interés por su frecuencia y por las dificultades terapéuticas que suponen son:

- Staphylococcus aureus resistente a meticilina (SAMR): resistentes a los betalactámicos
- Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE)
- Pseudomonas aeruginosa resistente a los carbapenemes (como imipenem, meropenem)
- Acinetobacter baumannii multirresistentes
- Enterococcus spp. resistentes a los glucopéptidos, como la vancomicina

Papel del laboratorio de microbiología en el control de la IACS

• Identificar microorganismos causantes de IACS
• Vigilar y monitorear la sensibilidad antimicrobiana
• Aportar datos para el uso racional y adecuado de los antimicrobianos
• Participar del comité de IACS
• Elaborar estrategias para el control de brotes infecciosos
• Colaborar en investigaciones epidemiológicas y en la elaboración de manuales de prevención

Prevención

La prevención y control de las IACS requieren de un Comité de Control de Infecciones asociadas al cuidado de la salud. Es el responsable de identificar,

investigar, prevenir y controlar las infecciones nosocomiales, utilizando la vigilancia epidemiológica como herramienta fundamental. Es un equipo de trabajo constituido al menos por, un epidemiólogo, un infectólogo, un microbiólogo y una enfermera especializada en control de infecciones.
Los profesionales convocados conforman un grupo de trabajo interdisciplinarios que se encargan de la revisión de las siguientes líneas:

1. Vigilancia Epidemiológica de las IACS
2. Vigilancia de Higiene de Manos de personal de salud y capacitación del mismo al respecto.
3. Limpieza hospitalaria
4. Aislamientos de pacientes con IACS
5. Uso apropiado de antimicrobianos

Existen numerosas medidas a tomar y realizar para el control, sin embargo, una de las conductas más importantes, sencilla, simple y económica, pero una de las más efectivas es la Higiene de manos. Su importancia en la disminución de la transmisión de infecciones en el hospital no puede ser desestimada.
La densidad de bacterias en la piel de las manos es de 10^2 a 10^3 UFC /cm2. La densidad de la microbiota transitoria en los trabajadores de la salud es mayor y se encuentra en el nivel más superficial del estrato córneo, constituida por gérmenes que se adquiere a través del contactpacientes, sinoe o con superficies contaminadas tales como camas, estetoscopios, mesadas, teclados de computadoras, teléfonos celulares, etc.
Es importante el concepto de que el uso de guantes no protege la colonización de las manos tal como lo demuestran diversos trabajos, por lo cual es imprescindible, para los trabajadores de la salud, una buena higiene de manos antes de colocarse guantes para diferentes procedimientos. De esta forma se previenen infecciones cruzadas entre pacientes.
Los cinco momentos del lavado de manos:
La OMS recomienda, para prevenir IACS, lavarse SIEMPRE las manos en los siguientes cinco casos:

1 ANTES DEL CONTACTO CON EL PACIENTE	¿CUÁNDO?: Higiene de manos antes de tocar al paciente, **durante la aproximación final**. EJEMPLOS: Examen clínico, ayuda al movimiento del paciente, toma de pulso, estrechado de manos.
2 ANTES DE TÉCNICA ASÉPTICA	¿CUÁNDO?: Higiene de manos **inmediatamente antes de la técnica**. EJEMPLOS: Higiene de la cavidad oral, aspiración de secreciones, cuidado de heridas/úlceras, inserción de catéteres, administración de medicación.
3 DESPUÉS DE CONTACTO CON FLUIDOS	¿CUÁNDO?: Higiene de manos inmediatamente después de una exposición a fluidos del paciente **(aunque se estén usando guantes)**. EJEMPLOS: Higiene de la cavidad oral, aspiración de secreciones, extracción o manipulación de sangre, manejo de heces, bolsas de orina o residuos.
4 DESPUÉS DEL CONTACTO CON EL PACIENTE	¿CUÁNDO?: Higiene de manos después de tocar al paciente, **antes de salir de su entorno inmediato**. EJEMPLOS: Examen clínico, ayuda al movimiento del paciente, toma de pulso, estrechado de manos.
5 DESPUÉS DE CONTACTO CON EL ENTORNO DEL PACIENTE	¿CUÁNDO?: Higiene de manos después de tocar cualquier objeto o mueble de su entorno, **aunque no se haya tocado al paciente** en sí. EJEMPLOS: Cambio de la ropa de cama, retirada de bandejas, ajuste de la velocidad del gotero.

Importancia de la Vigilancia de las IACS

La vigilancia de las IACS es un componente fundamental para el desarrollo de un programa de control de infecciones. Aporta a las autoridades sanitarias los datos fundamentales para un adecuado análisis de situación y diseño de políticas sanitarias eficaces. No solo consiste en la observación sistemática de la ocurrencia y distribución de eventos específicos relacionados con la atención de los pacientes, sino que implica la recolección sistemática de datos, su análisis, procesamiento estadístico y posterior devolución con el propósito de evaluar, reforzar y establecer estrategias para el control de infecciones asociadas al cuidado de la salud.

Bibliografía

• Consenso para el abordaje de algunos microorganismos problemas en las Infecciones asociadas al cuidado de la Salud. IX Congreso Argentino de la Asociación Argentina de Infectología. SADI 2010.

• Documento final del Consenso Interinstitucional: "Infecciones Asociadas al Cuidado de la Salud: Recomendaciones para el abordaje de distintos escenarios epidemiológicos" SADI, AAM, 2017.

Capítulo 26
Zoonosis

Introducción

Zoonosis (del griego zoon: animal) son enfermedades infecciosas transmisibles desde animales vertebrados al ser humano bajo condiciones naturales. Los agentes infecciosos involucrados incluyen bacterias, virus, priones, parásitos, hongos y rickettsias, entre otros.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define las zoonosis como aquellas enfermedades que se transmiten de forma natural de los animales vertebrados al hombre, y viceversa. Existen además otras enfermedades infecciosas (bacterianas y víricas) que, aunque ordinariamente no se transmiten del hombre a los animales, pueden afectar a ambos, para las cuales también se utiliza el término zoonosis. Se trata de agentes que viven de forma saprofítica en ciertos medios y son fuente de infección tanto para el hombre como para los animales, como lo es la listeriosis.

Las zoonosis son tan antiguas como la relación entre el hombre y los animales, pero la evolución de las técnicas de análisis cada vez más eficaces, permiten identificar agentes infecciosos, sobre todo virus, que tan sólo hace diez años habrían pasado inadver-tidos o confundidos con virus próximos conocidos.

En los últimos años se ha observado la emergencia y reemergencia de algunas zoonosis, fenómeno estrechamente relacionado a cambios ecológicos, climáticos y socioculturales que han determinado que la población animal comparta su hábitat con el hombre cada vez con mayor frecuencia.

Los métodos de prevención de la lucha contra las zoonosis son limitados, precisamente por tratarse de enfermedades transmisibles al ser humano y que son capaces de producir epidemias. Debe tenerse en cuenta, además, que pueden afectar tanto a los trabajadores como a la población en general.

Igual que ocurre con la mayoría de las enfermedades profesionales, la investigación de los casos en los que se pretende atribuir las zoonosis al riesgo profesional no siempre es fácil. En este caso, además, la enfermedad profesional no difiere clínicamente de la misma enfermedad contraída en otras condiciones, como por ejemplo comiendo, bebiendo, practicando deporte.

Todas las zoonosis pueden ser enfermedades de origen profesional, llamadas así a aquellas enfermedades que presentan los siguientes antecedentes epidemiológicos:

Cuadro 1: Enfermedades profesionales infecciosas y parasitarias

· Enfermedades infecciosas o parasitarias transmitidas al hombre por los animales o sus productos. · Labores o trabajos que ponen en contacto directo al hombre con animales, vectores o reservorios y sus cadáveres. · Manipulación de restos de animales. · Carga, descarga y transporte de mercancías. · Personal de laboratorios: principalmente aquéllos que manipulan animales. · Personal de salud que trabaja en hospitales, sanatorios y laboratorios.

La mejor manera de eliminar el riesgo de contraer infecciones zoonóticas de origen profesional consiste en suprimir reservorios y vectores. Cuando esto es difícil de alcanzar o en determinadas ocasiones imposible, deben adoptarse un conjunto de medidas de carácter preventivo que consiste en: disponer de una metodología de trabajo adecuada, usar equipos de protección individual certificados y proporcionar al personal expuesto, la vacunación o quimioprofilaxis específica para cada caso.

Clasificación de las zoonosis

Las zoonosis pueden clasificarse desde diferentes puntos de vista. A grandes rasgos se pueden distinguir entre zoonosis bacterianas, víricas, parasitarias y micóticas en función del agente infeccioso del que se trate.

El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Zoonosis, las clasifica en función de si el reservorio lo constituye el hombre o los animales. Se utilizan términos como antropozoonosis y zooantropozoonosis para indicar además la dirección en que se transmite la infección.

Otra clasificación del mismo Comité, mucho más clara desde el punto de vista práctico, es la que se basa en el ciclo biológico del agente infeccioso. Para ello dividen a las zoonosis en cuatro categorías:

1. Zoonosis directas: son aquellas que se transmiten de un hospedero (vertebrado infectado) a otro hospedero susceptible de contraer la infección, por contacto directo, por un objeto contaminado o por un vector de tipo mecánico. En este caso, el agente infeccioso sufre pocas modificaciones durante su reproducción y posterior desarrollo. Ejemplos de este tipo son la brucelosis, la rabia y la triquinosis.

2. Ciclozoonosis: en este caso el agente infeccioso, para completar su ciclo evolutivo, requiere más de un hospedero vertebrado, pero ninguno invertebrado. Es el caso de las teniasis humanas y la equinococosis.

3.Metazoonosis: infecciones que se transmiten mediante vectores invertebrados. El agente infeccioso puede multiplicarse y desarrollarse en el animal invertebrado y la transmisión a otro animal vertebrado sólo es posible tras un período de incubación extrínseco. Son ejemplos de este tipo las infecciones por Arbovirus, la esquis-tosomiasis y la peste.

4. Saprozoonosis: tienen a la vez un huésped vertebrado y un lugar de desarrollo no animal, como la materia orgánica, el suelo y las plantas. Son ejemplos de ello algunas micosis.
Otra clasificación es la que realiza la Organización Internacional de Trabajo (OIT) que, desde el punto de vista profesional, divide a las zoonosis en tres categorías en función del grupo de animales que sirve de fuente de infección principal de la infección humana. Se trata de una clasificación abierta ya que las infecciones se transmiten de un grupo animal a otro y algunas de estas especies pueden incluirse en más de una categoría:

1. Animales domésticos, aves de corral y mascotas: Constituyen el grupo más numeroso y comprenden infecciones como el carbunco, la brucelosis, la fiebre Q, la leptospirosis, la tuberculosis. Entre el grupo de trabajadores con mayor riesgo de exposición, figuran los ganaderos, granjeros, veterinarios, trabajadores de mataderos, de la lana y el pelo.

2. Animales salvajes y merodeadores o sinantrópicos: Las zoonosis derivadas de este grupo son, entre otras, la peste, la tularemia, la salmonelosis, la leptospirosis, la fiebre Q. Los trabajadores con mayor exposición son los cazadores, conservadores de animales salvajes, guardias rurales, leñadores, horticultores y otros trabajadores rurales.

3. Animales de laboratorio: Se incluyen en este grupo enfermedades infecciosas transmitidas principalmente por roedores y conejos de laboratorio, como por ejemplo la salmonelosis, la fiebre por mordedura, la leptospirosis. No obstante, el uso creciente de primates en el campo de la investigación, ha incrementado las enfermedades transmitidas por este grupo animal, como la enfermedad de Marburg, transmitida con preparados de cultivos celulares a partir de riñones del mono Cercopithecus aethiops (mono verde).
Estas infecciones, según su ciclo, pueden ser clasificadas como sinantrópicas cuando tienen un ciclo urbano o exoantrópicas, cuando el ciclo es selvático. Algunas zoonosis pueden presentar ambos ciclos como por ejemplo la enfermedad de Chagas-Mazza y la fiebre amarilla.

Agentes etiológicos

Se han caracterizado alrededor de 200 zoonosis, algunas de ellas con amplia distribución geográfica. Los agentes infecciosos involucrados son múltiples, algunos de estos se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Microorganismos relacionados a zoonosis

Virus	Hongos	Parásitos	Bacterias
Flavivirus	Cryptococcus neoformans	Crystosporidium spp.	Bartonella henselae
Hantavirus	Histoplasma spp.	Giardia lamblia	Borrelia burgdorferi
Orthopoxvirus	Microsporum canis	Isospora belli	Brucella spp.
Rhabdovirus	Trichophyton mentagrophytes	Taenia	Campylobacter Jejuni
		Toxocara canis	Ehrlichia canis
		Toxoplasma gondii	Leptospira spp.
		Trichinella spiralis	Listeria monocytogenes
			Salmonella entiritidis

Zoonosis asociadas a tenencia de mascotas

Históricamente la compañía de animales ha tenido un rol importante en la actividad del hombre. Se han realizado varios estudios que demuestran los beneficios de esta relación. Así se ha visto que esta interacción puede mejorar la función cardiovascular, estimula un mayor grado de responsabilidad e independencia, disminuye la ansiedad, mejora las relaciones interpersonales, aporta compañía y en algunos enfermos

permite una más rápida recuperación.
A pesar de estos beneficios existen inconvenientes tales como el riesgo de mordeduras, alergias y zoonosis relacionadas a la tenencia de animales. (Tabla 2).

Tabla 2. Infecciones relacionadas a mascotas

Reptiles	Aves	Roedores y conejos	Gatos	Perros
Salmonelosis	Cryptococosis	Campilobacteriosis	Bartonelosis	Criptosporidiosis
	Psitacosis	Coriomeningitis linfocitaria	Campilobacteriosis	Ectoparasitosis
		Ectoparasitosis	Criptosporidiosis	Ehrlichiosis
		Hanta	Ectoparasitosis	Giardiosis
		Leptospirosis	Pasteurelosis	Hidatidosis
		Rabia	Rabia	Larva migrans cutánea
		Salmonelosis	Tiñas	Leptospirosis
		Tiñas	Toxocariasis	Pasteurelosis
			Toxoplasmosis	Rabia
				Tiñas
				Toxocariasis

ZOONOSIS DE ETIOLOGÍA BACTERIANA

Carbunco

"Ántrax ó anthrax" (en inglés) son sólo un par de las denominaciones con las que se conoce a esta zoonosis, es decir, una enfermedad común y transmisible entre humanos y animales. Algunas otras son carbunco, carbunclo, grano malo, pústula maligna (todos estos nombres son los más utilizados en nuestro país), carbón (del francés charbon) y varias más.
Es una enfermedad infecciosa causada por la bacteria Bacillus anthracis, entre cuyas características más importantes se destaca la particularidad de adoptar formas de resistencia a las condiciones climáticas ambientales -denominadas esporas-, las que pueden permanecer viables durante mucho tiempo -hasta decenas de años- en suelos y pastos. Estas esporas son las que producen la enfermedad al incorporarse a un organismo vivo, por distintas vías, como se describirá posteriormente.
No es una enfermedad "nueva". Pese a que ha sido reinstalada en la consideración pública por su probable utilización como arma bacteriológica, es conocida por veterinarios, bacteriólogos, médicos y trabajadores rurales desde hace siglos. Aún más, se cree que entre las plagas que, según La Biblia, asolaron a Egipto 1500 años antes de Cristo figuraba esta enfermedad. El primer aislamiento de Bacillus anthracis fue realizado por Robert Koch en 1876 y años más tarde -en 1881- Louis Pasteur aplicó por primera vez la vacuna contra esta enfermedad en ovejas.
La enfermedad puede afectar a todos los mamíferos -incluidos los humanos-, pero son los animales herbívoros y entre éstos los rumiantes -bovinos, ovinos y caprinos- los que resultan particularmente sensibles y expuestos; por ello son los que presentan mayor probabilidad de enfermarse. Los omnívoros -especialmente los cerdos- y en mucho menor grado los carnívoros pueden también resultar afectados.

El Carbunco y los Humanos

Las personas pueden infectarse accidentalmente al tomar contacto con animales con-taminados o con productos derivados de éstos -carne, lana, cuero-, únicamente. No hay transmisión o contagio entre humanos.
Las formas de entrada de Bacillus anthracis al organismo -por piel, por ingestión o por inhalación - determinan las tres formas de presentación del carbunco en los humanos - cutáneo, digestivo o respiratorio-.
La forma cutánea es la más frecuente -hasta el presente, la totalidad de los casos diag-nosticados en nuestro país responden a esta forma- y conocida, especialmente por las personas vinculadas al agro -peones rurales, tamberos, esquiladores, veterinarios, trabajadores de frigoríficos y curtiembres.
Se produce al ponerse en contacto las esporas de Bacillus anthracis con alguna lesión o abrasiones de la piel. Luego de 24 a 48 horas aparece una inflamación localizada, que progresa a una especie de "ampolla", la que finalmente se ulcera, presentando una zona de color negro muy característica (lo que le da el nombre a la enfermedad -carbunco, carbunclo, grano malo, carbón).
La gravedad de este cuadro es mínima si es rápidamente atendido y medicado con los antimicrobianos específicos para esta bacteria.
La forma digestiva es la puerta de entrada más común entre los animales herbívoros - al consumir pastos o tomar agua contaminados con esporas provenientes de animales enfermos o muertos-. Pero suele ser bastante menos frecuente en los humanos, ya que la manera de contagiarse es únicamente a través del consumo de carnes insuficiente-mente cocidas provenientes de animales enfermos o muertos por esta enfermedad.

Esto resulta poco probable debido al aspecto que suelen presentar los animales muertos de carbunco, lo que evita, por lo general, que sean consumidos.
En casos de ocurrir, pueden presentarse lesiones a nivel del tracto digestivo superior -boca o esófago- o cuadros gastrointestinales severos -con diarrea, vómitos y hemorragias digestivas.
Suele tener un pronóstico de mayor gravedad que la forma cutánea y requiere del diagnóstico temprano y de la instauración rápida del tratamiento antibiótico.
La forma respiratoria es la que actualmente, por lamentables razones, ha adquirido mayor notoriedad. El contagio se produce al inhalar aerosoles -invisibles e inodoros-conteniendo las esporas de Bacillus anthracis, las que al entrar al organismo pasan a un estado germinativo dentro de las células y dan comienzo así al proceso infeccioso.
Los primeros síntomas aparecen entre los 2 y 5 días posteriores al contagio y suelen ser leves lo que hace que se confundan con los de una infección común de las vías respiratorias superiores. Posteriormente, evoluciona hacia cuadros de mayor riesgo y presenta la mayor probabilidad de casos fatales. Debido a su gravedad, el diagnóstico precoz y la administración rápida de ATM resulta fundamental para salvaguardar la vida de los afectados.

Diagnóstico bacteriológico
B. anthracis se puede detectar con facilidad mediante examen microscópico y cultivo de muestras de las pápulas o úlceras cutáneas.
En el tejido se observan bacilos Gram positivos sin esporas. En laboratorios de referencia la tinción con anticuerpos marcados con fluoresceína puede confirmar la sospecha clínica.
Crece en medios enriquecidos con producción de colonias adherentes que proliferan con rapidez y que no son hemolíticas.
La ausencia de hemólisis, la consistencia de las colonias y aspectos microscópicos de las cadenas serpentinas de bastones en “cabeza de medusa” o “melena de león” lo diferencian de otras especies. La identificación definitiva requiere de pruebas bioquímicas y demostración de su inmovilidad.

Prevención
Más allá de las medidas recomendadas por las autoridades sanitarias del Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires y del estado nacional referidas al manejo de posibles fuentes de contaminación -encomiendas, cartas, paquetes- y a la consulta médica inmediata ante la sospecha de los primeros síntomas de enfermedad, vale la pena mencionar que existen en la práctica diaria medios de prevención de la enfermedad basados, por un lado, en prácticas o hábitos en la forma de establecer contacto con animales, especialmente los presumiblemente enfermos y, por otro, en la existencia de vacunas.
Aquellas personas que por sus actividades laborales o recreativas pueden estar en contacto con bovinos, ovinos o caprinos, deben tomar precauciones especiales si van a manipular heridas, cadáveres, cueros, lanas y pelos de estos animales.
Con respecto a las vacunas existentes, vale la pena aclarar que para los animales herbívoros existe una vacuna de alta eficiencia, la que aplicada sistemáticamente -una vez por año- otorga una buena protección. Bajo ningún concepto, estas vacunas deben ser utilizadas en seres humanos.
La vacunación para humanos sólo está indicada para casos muy particulares -personas en alto riesgo de contagio- y no está recomendada para uso masivo en ningún país.

Tratamiento
Toda persona con sospecha de síntomas compatibles con esta enfermedad debe acudir de inmediato a una consulta médica, donde recibirá las instrucciones para iniciar el tratamiento antimicrobiano conveniente. En ninguna circunstancia se debe instaurar algún tipo de tratamiento sin la correspondiente supervisión médica. La automedicación puede crear trastornos colaterales y generar formas resistentes de la bacteria, lo cual complicaría posteriores acciones sanitarias.

El Carbunco y las mascotas
Para aportar tranquilidad y no crear situaciones de alarma innecesarias se debe tener en cuenta que, hasta el presente, no se han detectado casos de carbunco en felinos domésticos y son escasísimos los casos en caninos domésticos en el ámbito mundial. Al respecto, vale aclarar que no hay referencias en nuestro país de casos de carbunco en estas dos especies.
A la baja susceptibilidad de perros y gatos a contraer la enfermedad, se debe agregar que normalmente no suelen estar expuestos a las fuentes más comunes de contagio, por lo que se informa a las personas que tengan este tipo de animales que la convivencia con los mismos no conlleva ningún riesgo.

NOMBRE: Ántrax, enfermedad de los cardadores de lana.
AGENTE ETIOLÓGICO: Bacillus anthracis.
RESERVORIO:
Animales herbívoros (corderos, cabras, etc.) y cerdos, así como sus productos lana, piel, pelo, etc. Las bacterias se eliminan por la orina y las heces. Los cadáveres son igualmente contagiosos.
DISTRIBUCIÓN:
Mundial con casos endémicos y esporádicos. Se trata de una enfermedad poco frecuente en el hombre en la mayoría de los países industrializados.
VÍAS DE ENTRADA:
Cutánea, a través de la piel y las mucosas, por contacto directo con los tejidos de animales que han muerto de la enfermedad, o bien a través de pieles y lanas de animales afectados o de productos derivados de los mismos.
Respiratoria, por inhalación de esporas contenidas en el material infectado.
Digestiva, debido a la ingestión de carne contaminada poco cocida, principalmente en países donde no se realizan los controles sanitarios pertinentes.
Inoculación accidental, generalmente en el personal de laboratorio.
PERSONAS DE RIESGO:
Constituye un riesgo laboral principalmente para los trabajadores que manipulan pelo, pieles, lanas y derivados, también veterinarios y agricultores en contacto con animales infectados.
MEDIDAS DE PREVENCIÓN:
Eliminación de la infección en las granjas animales.
Prevención del contacto con animales y/o sus productos infectados.
Control del polvo y ventilación adecuada para las industrias con riesgo.
Educación sanitaria, con especial referencia a la higiene personal, especialmente la relacionada con las lesiones cutáneas.
INMUNIZACIÓN/VACUNA:
Vacunación a los animales y a las personas expuestas.

Brucelosis

La Brucelosis, conocida también como Fiebre Ondulante, Fiebre de Malta, Fiebre del Mediterráneo o Enfermedad de Bang; se encuadra dentro del grupo de las zoonosis. Importa, por lo tanto, al campo de la veterinaria y de la medicina humana.
Las consecuencias de esta enfermedad se hacen sentir en la salud de la población y en el rendimiento del ganado, lo cual tiene repercusión en el bienestar general. Es un peligro para la familia tanto rural como urbana, para los trabajadores rurales, de mataderos o frigoríficos y para los veterinarios. Es causada por un microorganismo del género Brucella, adquirido por el ser humano de manera directa o indirecta a partir de:
· Reservorio animal: vacunos, porcinos, caprinos, ovinos y cánidos.
· Derivados de animales: leche, crema, manteca, quesos y quesillos.
· Materiales contaminados: carne, orina, estiércol y placenta de animales enfermos.

Especie	Biotipos	Hospederos principales
Clásicas		
B. melitensis	1-3	caprínos y ovinos
B. abortus	1-9	bovinos
B. suis	1-5	porcinos
B. canis		perros
B. ovis		ovinos
B. neotomae		roedores
Nuevas		
B. ceti		mamíferos acuáticos
B. pinnipedialis		mamíferos acuáticos
B. microti		roedores
B. inopinata		desconocido

Pueden darse casos también de infecciones cruzadas.

¿Cómo se manifiesta en los animales?
Fundamentalmente con abortos en el último tercio de la gestación, infección uterina y, ocasionalmente, la muerte del animal.
Cuando un animal se enferma, Brucella spp., invade el organismo, localizándose en los órganos genitales. Las consecuencias de esa infección suelen ser pérdidas prematuras de las primeras crías, nacimiento de crías débiles, infertilidad y disminución de la secreción láctea.
La principal forma de contagio en los animales es por vía digestiva. Los animales se infectan cuando lamen los productos abortados o comen pastos contaminados con deyecciones de animales enfermos.

La Brucelosis en el Hombre

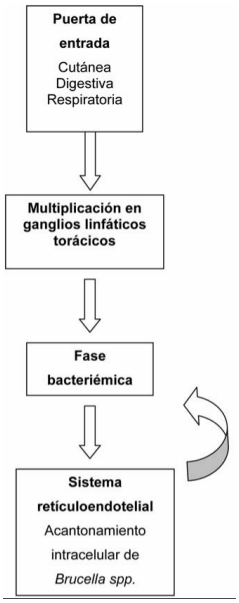
La presencia de esta enfermedad en el ser humano depende directamente de la existencia de la enferme-

dad en los animales, que son quienes la transmiten al hombre.
Es una enfermedad con manifestaciones muy variables; agudas en algunos casos y crónicas en otros; tan leves en algunas oportunidades que la enfermedad puede pasar inadvertida, mientras en otros puede adquirir características graves.
Algunas de las manifestaciones de la brucelosis humana son: fiebre, escalofríos, sudores, dolores generalizados, dolores localizados en las articulaciones, dolor de cabeza, inapetencia, debilidad y desgano.

¿Cómo se contagia el hombre?
a) Tomando leche de cabras o vacas enfermas, consumiendo quesos o quesillos elaborados con leche contaminada.
b) Por contacto directo con fetos de cabra, vaca, perros o cerdos o secreciones uterinas de los mismos.
c) Heridas del hombre que se contaminan con sangre o secreciones uterinas de ani-males enfermos.
d) En el momento del parto de cabras o vacas, al ser ayudadas por el hombre para permitir el nacimiento.
La Brucelosis en el hombre es curable cuando se la trata precozmente. De no ser así, el tratamiento suele ser largo y costoso.

Dado que la Brucelosis no se transmite de un ser humano a otro, la prevención de la enfermedad en el hombre depende de medidas higiénicas con los productos y subproductos del ganado, como así también de protección frente al ambiente en el trabajo rural. Las más elementales formas de prevención son:

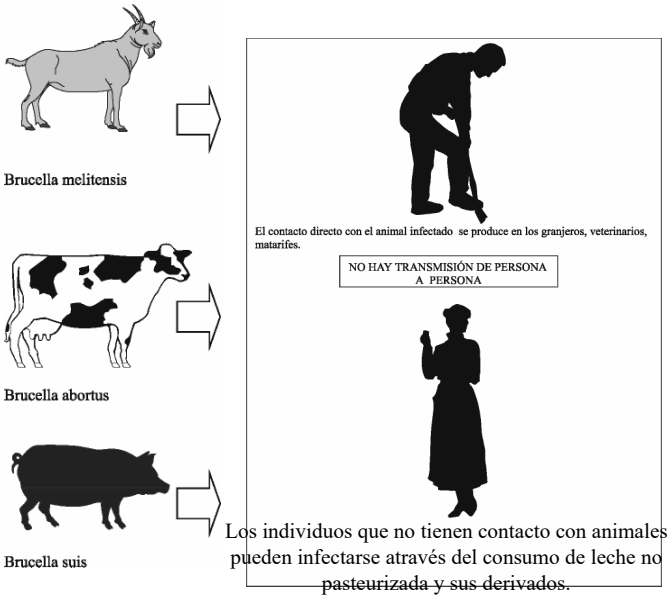
· Tomar siempre leche pasteurizada o en su defecto hervida 10 minutos.
· No comer queso, manteca ni crema, que no ofrezcan la seguridad de haber sido elaborada con leche pasteurizada o hervida.
· Utilizar guantes y botas cuando se realicen tareas con animales (ordeñe, faena, etc.).
· Lavarse bien las manos y cumplir con las reglas de higiene general.
· No beber agua de fuentes dudosas sin hervirla o clorarla previamente.
· Consultar siempre al médico ante cualquier problema de salud.



Diagnóstico bacteriológico
Las muestras para el diagnóstico de brucelosis son sangre (hemocultivo) y médula ósea. También pueden utilizarse según la localización de la bacteria: el líquido sinovial (artritis), ganglios, LCR y orina.
En la microscopía su pequeño tamaño las hace difícil de observar en las muestras clínicas teñidas. Es de utilidad la prueba de inmunofluorescencia directa.
En el cultivo Brucella spp. se comporta como delicada y de crecimiento lento. La sangre y la médula ósea son los materiales que permiten el mayor índice de aislamientos en la fase aguda. Se multiplica en la mayoría de los medios enriquecidos como agar sangre, agar chocolate, agar-Brucella, medio bifásico de Ruiz Castañeda, infusión cerebro- corazón. El agregado de suero de caballo o conejo calentado, estimula el desarrollo en todos los medios. A la atmósfera de incubación se le debe aportar humedad y 5-10% de CO2 (B. abortus).
Los hemocultivos deben incubarse por 4-6 semanas y los medios dispuestos en placas 3 semanas para recién ser informados como negativos.
La identificación se realiza mediante la aglutinación de partículas con suero antibrucelar.
Las especies se distinguen por la rapidez con que hidrolizan la urea, por su capacidad relativa para producir H2S (abortus), por sus requerimientos de CO2, y su sensibilidad a los colorantes de anilina: tionina (melitensis y suis) y fucsina básica (melitensis y abortus).
También el patrón de lisis por fagos: Tbilisi (abortus), Weybridge (abortus-suis) y Berkeley (melitensis -abortus-suis) es utilizado en la diferenciación de es-

pecies. Todos los aislamientos deben enviarse a laboratorios de referencia.
Debido a la dificultad del aislamiento muchos casos se diagnostican por serología usando la reacción de Huddleson y la Prueba de Rosa de Bengala.
En la reacción de Huddleson luego de la segunda semana de enfermedad es posible detectar las aglutininas específicas (resultan de utilidad en el diagnóstico los títulos superiores a 1/100 con tendencia ascendente). Esta reacción detecta anticuerpos totales y para detectar IgM es necesaria la reacción con 2-mercaptoetanol.
La Prueba de Rosa de Bengala se caracteriza por una aglutinación rápida en placa donde una suspensión de bacterias teñidas con este colorante se enfrenta al suero del paciente. En la actualidad comienzan a utilizarse pruebas de enzimoinmunoensayo y radioinmunoanálisis, las que parecen tener mayor sensibilidad.
Fundamentalmente, la prevención de la infección en el hombre depende de la profilaxis y la eliminación de esta enfermedad en los animales, mediante la vacunación del ganado antes de cumplir el año.
Un aspecto importante a tener en cuenta lo constituyen las grandes pérdidas económicas que esta enfermedad causa como consecuencia de los abortos, la esterilidad y la disminución de la producción de leche en los animales. Nos debe interesar profundamente por ser una enfermedad endémica en nuestra provincia, pero que puede ser controlada si se toma real conciencia de su importancia, sobre todo por parte de las poblaciones rurales y ganaderas.
Que sea comprendida la necesidad de eliminar la Brucelosis es tarea ardua y compleja. Requiere eficaces campañas de información pública.

NOMBRE: Fiebre de Malta, fiebre ondulante.
AGENTE ETIOLÓGICO: Brucella abortus, Brucella melitensis, Brucella suis, Brucella canis
RESERVORIO:
Son vacas (B. abortus), corderos y cabras (B. melitensis), cerdos (B. suis), perros (B. canis)
DISTRIBUCIÓN:
Mundial, especialmente en países mediterráneos y ganaderos (vacas, porcinos, cabras y ovejas)
VÍAS DE ENTRADA:
A través de la piel o las mucosas, por contacto con tejidos, sangre, orina, secreciones vaginales, productos de abortos animales especialmente con la placenta. Vía digestiva, generalmente por ingestión de productos lácteos contaminados. Vía respiratoria, por inhalación de aerosoles en establos, laboratorios y mataderos.
PERSONAS DE RIESGO:
Entre las personas afectadas se incluyen profesiones muy diversas que tienen en común el contacto con animales infectados o con sus tejidos. Entre estas profesiones cabe citar los veterinarios, agricultores, carniceros, trabajadores de mataderos, ganaderos, pastores, tratantes y transportistas de ganado y personal de laboratorio e industrias farmacéuticas.
MEDIDAS DE PREVENCIÓN:
Control de la enfermedad animal y eliminar adecuadamente los animales infectados mediante aislamiento o sacrificándolos.
Desinfección de las áreas contaminadas.
Formación e información adecuada al personal expuesto.
INMUNIZACIÓN/VACUNA:
En la actualidad, no está indicada la vacunación en los grupos de riesgo porque la prevención de la brucelosis en los animales está perfectamente implantada y controlada. La administración de la vacuna en el hombre es compleja y existen efectos secundarios importantes.



Leptospirosis

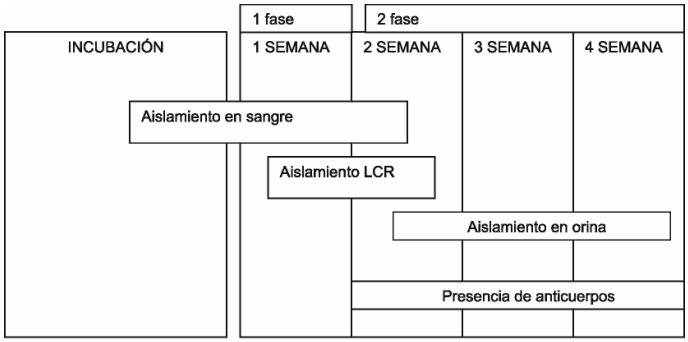
La leptospirosis es causada por una espiroqueta (bacteria) llamada Leptospira interrogans de la que existen numerosas variedades capaces de producir infección en diferentes especies animales entre las que se

incluyen bovinos, cerdos, ovinos, equinos y caninos. En los bovinos a veces el único signo de enfermedad es el aborto. Esta bacteria se multiplica en los riñones de animales portadores inaparentes, y se elimina con la orina, que contamina los arroyos, bañados, lagunas y los cursos de agua. Distintas especies domésticas pueden eliminar Leptospira en su orina. La forma más grave en humanos la produce Leptospira icteroemorragiae que es eliminada al medio ambiente por ratas. En los cursos de agua, si las condiciones son adecuadas, pueden persistir desde 12 horas a 30 días. La persistencia se ve favorecida en aguas levemente alcalinas (pH 7-8).

La leptospirosis es una enfermedad caracterizada en los humanos por fiebre, hemorragias en distintos órganos, anemia hemolítica e ictericia, esporádicamente signos de encefalitis y en algunos casos, si no son tratadas, las formas más graves pueden ser mortales. Sin embargo se observan también casos en los que las manifestaciones clínicas son leves. Debe sospecharse de esta enfermedad cuando se observen síntomas respiratorios parecidos a la gripe, congestión o hemorragias de la mucosa subconjuntival y dolores musculares. También falta de apetito y cefalea. Es frecuente observar signos de afección hepática.

El ser humano puede infectarse principalmente bebiendo aguas contaminadas o a tra-vés del contacto de estas aguas con la mucosa de la conjuntiva. Probablemente las heridas favorezcan la infección a través de la piel. Para evitar la infección se debe beber sólo agua potable o potabilizada mediante hervor. También se deben lavar y desinfectar las heridas después de tomar contacto con aguas contaminadas. Evitar la ingestión de aguas de arroyos o canales. El hecho de lavar alimentos con aguas contaminadas o bañarse y nadar en las mismas, puede ser suficiente para que las personas se infecten. La principal forma de infectarse es por vía oral. Leptospira spp. no resiste la desecación, y es destruida por el calor. Se puede eliminar mediante hipoclorito de sodio (lavandina) y con detergentes catiónicos por contacto directo durante cinco minutos. El uso de soluciones ácidas o muy alcalinas también destruye a esta bacteria y pueden usarse para tratar algunos cursos de agua. Es importante el control de ratas y otros roedores. Es una enfermedad relacionada principalmente a cierto tipo de actividades en las que se trabaja con animales y al consumo de alimentos almacenados en lugares habitados por ratas.

Ante la sospecha de la infección en humanos, debe consultarse inmediatamente con un médico infectólogo o clínico, en un Centro de Atención Médica. Diagnosticada en forma temprana esta enfermedad puede tratarse. Para tomar decisiones en este tema es importante que se consulte siempre a un profesional.



Diagnóstico bacteriológico

La muestra clínica para el aislamiento depende de la semana de enfermedad: sangre, LCR y orina.

La microscopía debe realizarse con campo oscuro o técnicas de impregnación argéntica, ya que se visualiza como una espiroqueta.

El cultivo se realiza con medios selectivos aeróbicos con suero de conejo: Fletcher y otros. De crecimiento lento, requieren temperatura de incubación entre 28-30ºC durante 6 semanas.

La serología es muy utilizada detectando la seroconversión o aparición de IgM específica

La inmunidad es específica de serovariante.

NOMBRE: Enfermedad de Weil, enfermedad de los porqueros.
AGENTE ETIOLÓGICO: Leptospira interrogans, que se subdivide en numerosos serotipos.
RESERVORIO:
Principalmente los roedores, animales domésticos y salvajes.
DISTRIBUCIÓN:
Mundial, excepto las regiones polares.
VÍAS DE ENTRADA:
A través de la piel y las mucosas, especialmente si está lesionada, por contacto con el agua, tierra húmeda y vegetación contaminada, así como por contacto directo con orina o tejidos de animales infectados.
Vía digestiva por ingestión de aguas contaminadas o la ingestión accidental de alimentos contaminados con orina de ratas infectadas.
PERSONAS DE RIESGO:

Granjeros, ganaderos, agricultores (cultivos de arroz y caña de azúcar), mineros, veterinarios, pescadores, trabajadores de piscifactorías.
MEDIDAS DE PREVENCIÓN:
Identificar y controlar los focos infecciosos, agua contaminada y población de ratas. Proporcionar a los trabajadores prendas de protección personal, como guantes y botas.
INMUNIZACIÓN/VACUNA:
La inmunización de los animales de granja y animales domésticos previene la enfermedad, pero no impide que los animales puedan comportarse como reservorios de la enfermedad a través de la orina. La vacuna ha de prepararse con la cepa de Leptospira dominante en la región. La vacuna para el hombre se encuentra en estudio.

Salmonelosis

Esta enfermedad corresponde a la infección por una enterobacteria denominada Salmonella, descubierta hace más de un siglo por un científico norteamericano, el Dr. D.E. Salmon, en cuyo laboratorio se aisló en 1885, una de las variedades más agresivas. En los Estados Unidos, se reportan aproximadamente unos 40.000 casos cada año, aunque este número puede llegar a ser hasta veinte veces mayor, debido a que los casos leves frecuentemente no son diagnosticados o reportados.
Existen varias especies dentro del género, que constituyen importantes agentes causales de infección, tanto en humanos como en animales.
Se clasifican en tres tipos:

1) Salmonella typhi, paratyphi A, B, C: agentes etiológicos de fiebre tifoidea.
2) Salmonella choleraesuis.
3) Salmonella enteritidis (en este grupo se ubican más de 2000 serotipos; cada uno de ellos recibe un nombre para diferenciarlo, por ejemplo: S. typhimurium, heidelberg, newport, infantis, agona).

La Salmonelosis puede presentarse bajo cinco formas clínicas diferentes, que aparecen en forma exclusiva o superpuesta y que corresponden a: portador (sin síntomas), infección intestinal (gastroenteritis), fiebre entérica (tifoidea), infección sanguínea (bacteriemia) e infecciones focales (meningitis, osteomielitis o abscesos).
De estos cuadros, el más frecuente es la gastroenteritis, caracterizada por diarrea, dolor abdominal y fiebre que se inician de 6 a 72 horas después del contagio. La infección persiste de 4 a 7 días y la mayoría de los enfermos se recuperan espontáneamente. Sin embargo, existen casos en los que la diarrea puede ser tan profusa como para requerir hospitalización para rehidratación endovenosa. En algunos pacientes la infección puede diseminarse del intestino al torrente circulatorio (bacteriemia) y de allí a otros órganos, ocasionando así complicaciones importantes.
La fiebre entérica o fiebre tifoidea, causada por la variedad S. typhi, tiene un período de incubación más prolongado y cursa con fiebre, dolor de cabeza, malestar general, pérdida del apetito, somnolencia, dolor abdominal, hepatomegalia, esplenomegalia, erupciones cutáneas, estreñimiento y posteriormente diarrea. Al inicio de la enfermedad se observa únicamente fiebre -debido a la bacteriemia- y, cuando se asocia a infecciones focales, síntomas y signos clínicos correspondientes al órgano afectado.

Mecanismo de transmisión

Salmonella spp. vive en el tracto intestinal de algunos animales como: ganado, aves de corral, mascotas domésticas, reptiles y tortugas. El contagio se produce al ingerir alimentos contaminados, en especial aquellos de origen animal, incluyendo carnes rojas, aves de corral, huevos y leche no pasteurizada, aunque puede ocurrir al ingerir frutas, verduras o arroz. Los alimentos contaminados pueden lucir y oler normalmente.
Las altas temperaturas eliminan completamente al microorganismo, por lo que resulta imposible contagiarse ingiriendo alimentos de origen animal fritos a altas temperaturas o cocidos apropiadamente. Sin embargo, la contaminación de los alimentos después de ser cocinados es factible, caso que sean manipulados por personas infectadas con Salmonella, como ocurre cuando no se lavan antes de comer o de preparar los alimentos. También se puede contagiar Salmonella al tocar mascotas enfermas.
El diagnóstico de las infecciones por Salmonella, se fundamenta en los cultivos bacteriológicos de heces (coprocultivos), de sangre o médula ósea (en los casos de fiebre tifoidea), de LCR (en los casos de meningitis) y de aspirados de secreciones (en los casos de abscesos).
Estas infecciones casi nunca requieren tratamiento a menos que el paciente sufra deshidratación importante o la infección se disemine. No se administran ATM a los pacientes con gastroenteritis no complicada, porque el tratamiento no acorta la duración de la en-

fermedad. Únicamente se ofrecen a pacientes de alto riesgo, como los bebés menores de 3 meses y niños enfermos por cáncer, enfermedades inmunológicas y otras. En nuestro país, los serotipos de Salmonella que se diagnostican, resultan frecuentemente resistentes a los ATM tradicionales, pero son sensibles a las cefalosporinas.
Los casos de fiebre tifoidea, bacteriemia e infecciones focales requieren antibióticoterapia apropiada, por lo que se administran medicamentos como Cefotaxima, Ceftriaxona, Cloramfenicol, Trimetoprima-Sulfametoxazol, Ampicilina o Amoxicilina. La duración del tratamiento dependerá de la localización de la infección, las condiciones generales del paciente y la respuesta clínica.

Medidas preventivas

· No existen vacunas para prevenir estas infecciones.
· No ingerir alimentos de origen animal crudos o mal cocinados. Esto incluye leche sin pasteurizar y salsas que contengan huevos crudos (como la salsa Holandesa y César), platos crudos como el "steak tartar" (filete tártaro) o carpaccio y carnes semicrudas (a término medio).
· Mantener refrigerados los productos de origen animal.
· Descartar los huevos con cáscaras rotas.
· Lavar exhaustivamente las frutas y hortalizas antes de consumirlas.
· Lavarse las manos antes de comer o preparar alimentos.
· Evitar la contaminación indirecta de los alimentos cocinados, impidiendo su contacto con carnes crudas, manos o cuchillos contaminados. Además, lavar todo lo que haya estado en contacto con productos animales crudos.
· Evitar tortugas y reptiles como mascotas de los hijos.
· La lactancia materna contribuye a evitar la Salmonelosis y muchas otras enfermedades.

Tuberculosis
Esta enfermedad, conocida desde mucho tiempo atrás y la cual se creía bajo relativo control sanitario, ha adquirido reciente importancia, debido a la difusión de otra enfermedad entre los seres humanos: el SIDA. En numerosas ocasiones los portadores de VIH y que previamente habían sido contagiados con los agentes de la Tuberculosis (Mycobacterium tuberculosis y Mycobacterium bovis) sin haber presentado síntomas, ante la disminución de defensas producida por el VIH, terminaban con un cuadro tuberculoso.
Las infecciones caninas y felinas por M. tuberculosis se consideran una zoonosis inversa, es decir que la dirección de la transmisión es del humano al animal. Aunque las mascotas adquieren la infección con este agente, la difusión a las personas de perros y gatos no se ha reportado. Los perros tienen mayores probabilidades de adquirir la infección por M. tuberculosis que los gatos.
Los gatos y perros pueden ser diseminadores potenciales de M. bovis, cuando el proceso de la enfermedad se localiza de preferencia en intestino o tracto respiratorio. Raramente, son los gatos, especialmente aquellos que son alimentados con leche cruda o con vísceras bovinas (bofe o hígado), los que pueden enfermar de tuberculosis bovina.
Aunque estas mascotas pueden intervenir en el mantenimiento de la tuberculosis bovina, rara vez transmiten el bacilo bovino al humano.
Los bovinos son los principales implicados en la diseminación de la tuberculosis. El consumo de leche cruda (o sus subproductos) provenientes de animales enfermos, es la vía más importante de contagio para los humanos.
Prevención: la pasteurización de la leche y el control sanitario de los tambos son los aspectos más importantes del control de esta enfermedad, junto con la vacunación humana con BCG. A nivel personal se debe evitar el consumo de leche no pasteurizada y no alimentar a los gatos con leche cruda o con vísceras bovinas.

Yersiniosis
La yersiniosis es una enfermedad causada por la enterobacteria Yersinia enterocolitica, la cual vive en animales incluyendo cerdos, roedores, conejos, ovejas, ganado, caballos, perros y gatos. Yersinia enterocolitica puede encontrarse también en agua no potable. Los niños se infectan más frecuentemente que los adultos, y la enfermedad es más común en el invierno. Se puede contraer yersiniosis al comer alimentos contaminados, especialmente productos porcinos crudos o no bien cocidos, tales como mondongo, o al comer vegetales crudos contaminados con tierra o estiércol. Aunque también se puede contraer al tomar agua no tratada o leche no pasteurizada. Algunas veces la in-

fección puede ocurrir después del contacto con animales infectados que parezcan enfermos.
La yersiniosis también puede ser transmitida de persona a persona al tocar a personas enfermas o al manipular comida sin lavarse las manos, después de utilizar los baños o al tocar artículos tales como pañales con heces de una persona infectada y luego tocarse la boca.
Los síntomas de la enfermedad son:

· Fiebre.
· Dolor de estómago.
· Diarrea (frecuentemente con mucus, pus y sangre).

Los síntomas usualmente comienzan de 4 a 7 días después de su exposición. En niños mayores y adultos, los síntomas principales pueden ser dolor en el hipocondrio derecho y fiebre y puede ser confundida con apendicitis. Algunas personas pueden también tener dolor de garganta.
Pueden presentarse dolores articulares, usualmente en las rodillas, tobillos o muñecas. Estos dolores pueden ocurrir más o menos un mes después de que la diarrea comience y desaparecer después de 1 a 6 meses. Algunas personas, más comúnmente las mujeres, pueden presentar una lesión papulomatosa en la piel que aparece en las piernas o en el tronco. Esta desaparece por sí misma en un mes. A veces cursa con bacteriemia.
La enfermedad se puede prevenir de la siguiente manera:

· Lavar las manos con jabón y agua:
  · después de usar el baño;
  · después de tocar mascotas u otros animales;
  · antes de comer y preparar los alimentos;
  · después de preparar carne cruda;
  · después de tocar a los niños en pañales
  · después de tocar cualquier elemento plausible de tener heces
· No comer carne de cerdo cruda o no bien cocida.
· No tomar leche sin pasteurizar o comer alimentos hechos con leche sin pasteurizar.
· Después de manipular vísceras crudas, lavarse las manos y las uñas cuidadosamente antes de tocar a los bebés o sus juguetes, botellas o tetinas.
· Usar tablas de cortar separadas para la carne y otros alimentos.
· Limpiar cuidadosamente todas las tablas de cortar, superficies de trabajo, y utensilios con jabón y agua caliente después de preparar carne cruda.
· Lavar o pelar vegetales sin cocer antes de comerlos.
· No tocar defecaciones de las mascotas o de otros animales.

Psitacosis
Es una enfermedad infecciosa producida por Chlamydia psittaci que afecta principalmente a las aves, pero que esporádicamente puede transmitirse al hombre.
El principal reservorio de estos microorganismos, en efecto, son las aves. Los primeros casos fueron relacionados con las aves de la familia de los psitácidos: loros, cotorras, papagayos; de ahí el nombre de la enfermedad. Los pájaros enfermos eliminan el microorganismo (partícula elemental) por las secreciones respiratorias y del aparato digestivo, contaminando todo el medio ambiente donde habitan. El hombre se contagia en forma indirecta, a través de la inhalación de partículas contaminadas con las deyecciones de las aves enfermas; también puede infectarse en forma directa por contacto con el ave parasitada. Se han aislado otras especies de clamidias zoonóticas en cobayos, koalas, caballos, anfibios y reptiles (serpientes).
La mayoría de los casos se ha registrado en personas que, por razones laborales, están en contacto directo con las aves, como cuidadores, veterinarios, empleados de granjas avícolas. Es más frecuente en los adultos entre los 30 y 65 años de edad y es muy rara en los niños.
El cuadro clínico es muy variable en el hombre, manifestándose como un cuadro gripal, como una neumonía o sin ninguna manifestación clínica.
Luego de un periodo de incubación de 7 a 15 días, se presenta más frecuentemente como una neumonía atípica. De comienzo insidioso, con malestar general, escalofríos y fiebre. Posteriormente aparece un intenso dolor de cabeza, rechazo a la luz (fotofobia), dolores articulares y musculares. La tos, que generalmente aparece en forma tardía, puede ser seca o productiva con eliminación de estrías de sangre. También se manifiesta dolor en el tórax, sensación de falta de aire y se observa una coloración azulada de la piel y las mucosas en los casos más graves.
Otros órganos pueden verse afectados, no en forma aislada, sino acompañando al cuadro pulmonar, produciendo meningitis, anemias, alteraciones cardíacas, insuficiencia renal, artritis.

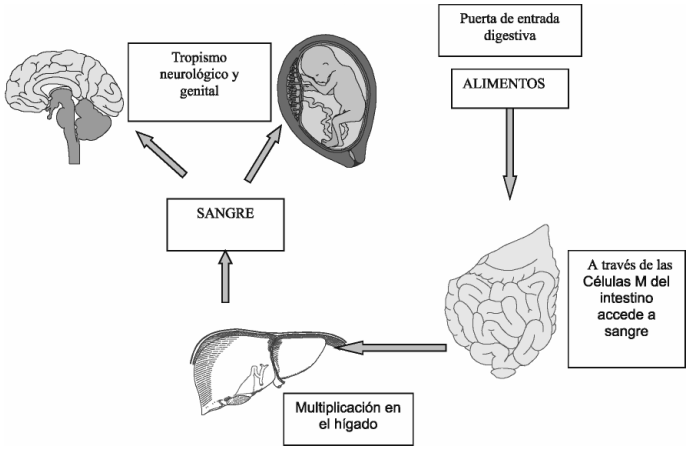
El curso de la enfermedad es muy variable, pudiendo prolongarse por más de un mes.
Para el tratamiento se utilizan ATM, siendo de elección las tetraciclinas o la doxiciclina, durante un período de 21 días. La eritromicina y todos los nuevos macrólidos, el cloranfenicol y la rifampicina, también pueden utilizarse como segunda línea.
Cuando el tratamiento ha sido el apropiado, el pronóstico es favorable; la mortalidad actualmente no supera el 1% de los casos, considerando que años atrás (en la era preantimicrobiana) ascendía al 20-40%.

Listeriosis

Es una infección bacteriana causada por Listeria monocytogenes.
Su emergencia ocurre a partir de 1981, con la puesta en evidencia de su transmisión alimentaria y la amplia difusión mediática que acompañó cada una de las epidemias, especialmente en el hemisferio norte.
Raramente diagnosticada antes de 1980, más de 10.000 casos fueron registrados en la literatura médica en 1982 y desde entonces, cientos de casos son observados cada año en el mundo. Esto indica una evolución de nuestro modo de vida, que ha creado las condiciones favorables para la expresión de este microorganismo.
L. monocytogenes es una bacteria patógena oportunista, que ataca en especial individuos inmunocomprometidos como:

· Embarazadas, en las que puede provocar abortos o nacimientos prematuros de niños septicémicos.
· Recién nacidos con sepsis y/o meningitis.
· Pacientes inmunodeprimidos (cáncer, transplante de órganos, hemodiálisis, SIDA).
· Personas añosas con formas clínicas de sepsis y meningitis o meningoencefalitis.

El progreso de la medicina en los últimos treinta años, con el consiguiente aumento de la esperanza de vida y del número de sujetos inmunodeprimidos, explicaría en parte, esta evolución.
L. monocytogenes es una bacteria ubicua, ampliamente difundida en la naturaleza, que presenta la particularidad de poder desarrollar en frío, a temperaturas de heladera (3- 4ºC), pudiendo de ese modo contaminar ciertos alimentos, aún aquellos mantenidos en cadena de frío.
El desarrollo de la industria agroalimentaria, los cambios en los hábitos alimentarios (platos listos para servir, apenas recalentados) son el origen de la formación de un reservorio de Listeria sin precedentes históricos, a partir del cual el hombre puede contaminarse.
L. monocytogenes ha sido aislada con distinta frecuencia de todas las grandes categorías de alimentos cualquiera sea su presentación: leche y productos lácteos, carne y subproductos, vegetales, crustáceos y pescados.
La listeriosis es una enfermedad grave, siendo considerada actualmente la infección de origen alimentario con mayor tasa de letalidad (20 a 30 % de los casos), teniendo costos elevados tanto desde el punto de vista médico como dentro de la industria agroali-mentaria.
Se observa principalmente en países industrializados de Europa, Norteamérica y Oceanía, pero no es posible asegurar si la infección existe y no es diagnosticada en África, Asia y en ciertos países de América del Sur. Es posible que el diferente desarrollo de la cadena de frío en los distintos países sea uno de los principales elementos que explicaría esta diversidad geográfica.
A mejores y más prolongadas condiciones de almacenamiento, mayor posibilidad de que se manifieste la enfermedad.
La listeriosis es una patología transmitida por alimentos contaminados, que evoluciona en forma de casos esporádicos que a veces se incrementan en pequeños brotes y aún hasta en verdaderas epidemias.



Éstas pueden presentar un número importante de casos, más de 300 como la de Inglaterra en 1988-89 y siempre están ligadas a una mortalidad de 20 a 30 % de los casos. Para la mayor parte de las epidemias estudiadas desde 1981, el vehículo puesto en evidencia fue un alimento contaminado conservado en frío.
Si bien la transmisión alimentaria es obviamente la

más frecuente, conviene agregar la de origen hospitalario, también descripta, sobre todo en maternidades y servicios de ginecología. La transmisión se haría a partir de un recién nacido infectado, y posteriormente un segundo niño nacido sano, algunas horas antes o después, manifestaría en los días siguientes signos meníngeos. El origen de estas infecciones es muy difícil de identificar: incubadoras, tubuladuras, o también los termómetros; todos ellos podrían ser sospechosos.

Peste

La peste es una infección grave y potencialmente mortal causada por Yersinia pestis. Peste bubónica; peste neumónica; peste septicémica son los nombres con que se la conoce en diferentes lugares del mundo. Los roedores salvajes, como las ratas, propagan la enfermedad a los seres humanos.

La peste se transmite entre los roedores por medio de la picadura de la pulga. Los humanos pueden adquirir la peste cuando tocan un animal infectado o cuando entran en contacto con sus excrementos o por la misma picadura de la pulga.

Ciertas formas de peste pueden transmitirse de un humano a otro. Cuando un enfermo de peste con neumonía tose, gotitas microscópicas que transportan el microorganismo se mueven a través del aire y alguien que aspire estas partículas puede adquirir la enfermedad. Una epidemia se puede iniciar de esta manera. En la Edad Media, epidemias masivas de peste mataron a millones de personas.

La peste es rara en los Estados Unidos, pero se ha sabido de su ocurrencia en lugares de California, Utah, Arizona, Nevada y Nuevo México.

Existen tres formas comunes de peste:

· Bubónica: infección de los ganglios linfáticos.
· Neumónica: infección de los pulmones.
· Septicémica: infección de la sangre.

El período de incubación característico es de 2 a 10 días, pero para la peste neumónica podría ser de unas pocas horas.

Los factores de riesgo para la peste pueden ser la reciente picadura de pulga y la exposición ocupacional o ambiental a los roedores, especialmente conejos, ardillas, o perros de la pradera, así como también arañazos o mordeduras de gatos domésticos infectados.

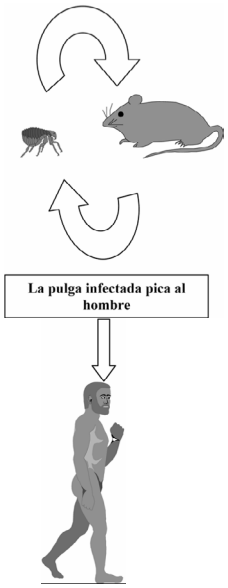
Peste bubónica: los síntomas aparecen súbitamente, en general después de 2 a 5 días de exposición a la bacteria.

· Comienzo súbito con fiebre alta.
· Escalofríos.
· Malestar general, inquietud o sensación de enfermedad.
· Dolores musculares.
· Dolor de cabeza intenso.
· El signo clásico lo constituye las inflamaciones ovaladas, rojizas, suaves, dolorosas de los ganglios linfáticos llamados bubas que se localizan sobre todo en la ingle, aunque también se pueden presentar en las axilas o el cuello. Se puede presentar dolor en el área antes de la inflamación.
· Convulsiones.

Peste neumónica: los síntomas comienzan abruptamente, de manera típica, 2 a 3 días después de la exposición.
· Tos intensa.
· Esputo sanguinolento y espumoso.
· Dificultad respiratoria.

Peste septicémica: este cuadro clínico puede causar la muerte incluso antes que ocurran los signos de peste bubónica o peste neumónica.

· Fiebre.
· Náuseas, vómitos, diarrea y dolor abdominal.
· Presión sanguínea baja.
· Problemas con la coagulación de la sangre.
· Insuficiencia de algunos o de todos los sistemas de órganos.



Los pacientes con peste necesitan un tratamiento inmediato dentro de las 24 horas siguientes al desarrollo de los síntomas iniciales o la muerte puede ser inevitable. El tratamiento consiste en ATM, tales como estreptomicina, cloranfenicol o tetraciclina.
Los pacientes con peste neumónica deben aislarse rigurosamente de otros pacientes y a aquellos que hayan tenido contacto con alguien infectado de peste neumónica se les observa atentamente y se les suministran ATM como medida preventiva.
La mitad de los pacientes con peste bubónica y casi todos los pacientes con peste neumónica mueren si no se hace un tratamiento a tiempo. El tratamiento reduce la tasa de mortalidad a un 5%.
Las muestras clínicas para el aislamiento de Y. pestis son aspirados de ganglios, esputo (peste neumónica) y sangre.
Para su observación al microscopio se emplean las coloraciones de Gram, Giemsa y con anticuerpos fluorescentes.
Para su aislamiento requiere de medios de cultivo enriquecidos, crece muy lentamente en medios comunes, y debe realizarse siempre aislamiento de sangre por hemocultivos.
La prevención se realiza con el control de roedores, el aislamiento de los pacientes con neumonía, quimioprofilaxis y la vacunación específica.
Las principales medidas empleadas para manejar el riesgo a las epidemias son el control de ratas y la vigilancia de la enfermedad en la población de roedores salvajes. Se dispone de una vacuna para los trabajadores que se encuentran en alto riesgo, pero su efectividad no está claramente establecida.

Enfermedad por arañazo de gato (EAG)
La enfermedad por arañazo de gato (EAG) es una enfermedad que puede padecer una persona a cualquier edad. La enfermedad afecta las manos a consecuencia de arañazos del gato; hay erosión, hipertermia y adenopatías localizadas. Si el paciente tiene inmunodeficiencia celular la enfermedad puede hacerse sistémica y se parece a una virosis. La enfermedad no es letal.
El agente etiológico principal es Bartonella henselae pero en algunos casos se han ais-lado Bartonella clarridgeiae y Afipia felis.
Se han realizado estudios serológicos y microbiológicos en pacientes humanos y en sus gatos, sin poder demostrar nada concluyente.
Así pues, se desconoce:

- Si la EAG está causada por uno o por muchos agentes diferentes.
- Si el gato es un vector específico del agente causal.
- Si el hecho crítico para que se produzca esta enfermedad es simplemente una herida punzante percutánea.

Sin duda, el hallazgo de una pequeña bacteria en los ganglios linfáticos de muchos pacientes humanos con EAG, arroja nueva luz sobre esta zoonosis.

Clínica
La mayoría de los casos informados lo han padecido niños y en general se iniciaron con el arañazo de un gato. Las lesiones cutáneas por arañazo de gatos se justificaron en más del 75,4% de los casos pero el resto fueron debidos a arañazos causados por otras especies así como por una amplia variedad de objetos punzantes (herida superficial por cuerpos extraños).
La mitad de los pacientes desarrollan una lesión primaria en el sitio de la inoculación (brazo o mano), consistente en una pápula escamosa, blanda, no pruriginosa, cubierta por una pequeña vesícula o escara, parecida a la picadura de un insecto. Después de 3 a 28 días del arañazo se comprueba la linfadenopatía en la región que drena el lugar de inoculación. Lo normal es que se afecte un sólo ganglio linfático de forma evidente, de consistencia blanda y con acompañamiento de eritema en la piel que lo recubre, no observándose linfangitis entre la lesión primaria y el ganglio linfático afectado.
El ganglio linfático axilar es el más afectado, siguiéndole los ganglios linfáticos cervicales, preauriculares, epitrocleares, femorales o inguinales en un lado del cuerpo. La mayoría miden de 0,7 a 3,5 cm. de diámetro y en los casos graves pueden supurar.
Síntomas sistémicos leves semejantes a los de la gripe, ocurren en el 75% de los pacientes y con mucha mayor frecuencia en los niños. El ablandamiento de los ganglios remite gradualmente pero el agrandamiento e induración puede persistir semanas o meses.
En ciertos casos la enfermedad puede revestir mucha más gravedad. Así pues el sín-drome óculo-glandular de Parinaud se presenta cuando el agente causante de la EAG se inocula accidentalmente en la conjuntiva palpebral a través del contacto con la mano contaminada después de tocar a un gato, desarrollándose entonces una conjuntivitis granulomatosa con hipertrofia del ganglio linfático preauricular. A veces, pueden

existir manifestaciones neurológicas graves (encefalitis, convulsiones y coma) entre 7 y 42 días después de haberse detectado los síntomas iniciales.
También se han descrito complicaciones respiratorias, cutáneas y óseas.

Enfermedad de Lyme
Enfermedad inflamatoria aguda bacteriana producida por Borrelia burdorgferi y transmitida por la picadura de una garrapata del género Ixodes de la especie rammini.

Llamada así por haberse descripto por primera vez en la ciudad de Lyme, Connecticut, en 1975 (descripta en perros recién por los años 80). Hoy se considera una enfermedad endémica en muchas partes del mundo.
Los ciervos y las ratas, que sirven de anfitriones a la garrapata, son los animales más frecuentemente infectados, pero los animales domésticos también son huéspedes en el ciclo de reproducción de las garrapatas (larva-ninfa-forma adulta).
La patogenia de la enfermedad no está conocida totalmente pero en la forma crónica parece ser que las lesiones son inmunomediadas.

Clínica
Esta patología es difícil de diagnosticar pues sus síntomas imitan a los de otras enfermedades:

· Anorexia.
· Fiebre.
· Depresión.
· Disbasia crónica y dolor articular.
· Otros (puede haber efusión abdominal y linfadenopatía; en un porcentaje bajo de casos se presenta enfermedad cardíaca, neurológica y renal por glomerulonefritis).

El tratamiento consiste en la administración de ATM según las etapas y manifestaciones: tetraciclina, doxiciclina, cefuroxima y penicilina.
Se desconoce la eficacia real del tratamiento precoz en la aparición de lesiones neurológicas, por lo que el mismo no parece garantizar la falta de complicaciones en este sentido.
Si se diagnostica pronto (en las primeras etapas) la enfermedad se cura con antimicrobianos por lo que el pronóstico es favorable, en cambio sin tratamiento o un diagnóstico tardío puede haber complicaciones en las articulaciones, el corazón y el sistema nervioso muy graves.

Fiebre Q o Fiebre Query
Es una enfermedad infecciosa causada por una bacteria (rickettsia): Coxiella burnetii; que ocasiona neumonía y hepatitis (inflamación del hígado) en su estado inicial e infección de las válvulas del corazón (endocarditis) si la condición se vuelve crónica, es decir, que persiste en el tiempo.
La fiebre Q se encuentra en todo el mundo. Afecta ovejas, cabras, vacas, gatos, pájaros, roedores y también a garrapatas. Los animales infectados eliminan esta bacteria en la orina, los excrementos, productos del parto y la leche.
Generalmente, los humanos adquieren la fiebre Q al inhalar gotitas contaminadas eliminadas por los animales infectados. El consumo de la leche no pasteurizada también se ha asociado con la infección en pocos casos. Las personas que se encuentran en un riesgo más alto de contraer la enfermedad son los veterinarios, los granjeros, quienes trabajan con ganado bovino y productos lácteos, al igual que quienes trabajan con este microorganismo en los laboratorios.
El período de incubación, es decir el tiempo para desarrollar los síntomas del cuadro agudo es de aproximadamente 20 días. Los tres tipos principales de síntomas incluyen: síndrome similar a una gripe (fiebre alta, dolor de cabeza, dolor muscular), que por lo general se resuelve espontáneamente, pues dura hasta tres semanas; neumonía (fiebre, tos, dolor torácico al respirar, disnea) y hepatitis (ictericia, heces acólicas y fiebre).
La neumonía se puede presentar hasta en una tercera parte de los individuos y la mayoría de los casos son relativamente leves e incluyen fiebre, tos, aunque se han notificado algunos casos graves. La hepatitis, que es otra consecuencia común de la fiebre Q, se puede presentar sola o simultánea con la neumonía. Otras características menos comunes de la fiebre Q aguda

son erupciones cutáneas, meningitis, miocarditis (inflamación de los músculos del corazón) y pericarditis (inflamación de la membrana que rodea el corazón).
La fiebre Q crónica se desarrolla en individuos que han estado infectados durante más de seis meses y su característica principal es la infección de las válvulas del corazón, endocarditis. Entre las personas que se encuentran en un riesgo más alto de contraer la enfermedad están aquellos con anomalías subyacentes de las válvulas del corazón, al igual que las personas con sistema inmune débil. Otras características menos comunes son la infección de aneurismas, disfunción hepática (cirrosis) y cicatrización pulmonar (fibrosis intersticial pulmonar).
Los síntomas de la fiebre Q crónica son fiebre prolongada, sudoración en la noche, escalofríos, fatiga y falta de aliento.
El diagnóstico de la fiebre Q se realiza en individuos en quienes se sospecha tienen antecedentes de exposición a la enfermedad y desarrollan síntomas similares a una gripe, neumonía, hepatitis o endocarditis. El diagnóstico microbiológico se realiza por serología, pues es muy difícil realizar un cultivo de la bacteria que causa la enfermedad.
Las muestras de tejidos o células infectadas pueden visualizarse con Giemsa o con IF directa utilizando anticuerpos específicos conocidos.
El cultivo en líneas celulares (Vero, HeLa, fibroblastos humanos o huevos embrionados) es posible en laboratorios altamente especializados.
Serología específica: fijación de complemento usando antígenos purificados.
Dado que C. burnetti existe en 2 fases, los reactivos para fijación de complemento preparados con antígenos en fase I y fase II pueden ser útiles para distinguir la infección aguda de la infección pasada o crónica. Los anticuerpos contra la fase II se observan en la Fiebre Q ordinaria, y en la enfermedad crónica existen anticuerpos contra las dos fases. Junto con la IF indirecta son útiles herramientas diagnósticas.
El tratamiento inicial para la fiebre Q es una terapia con ATM. Se recomienda la doxiciclina para tratar la fiebre Q aguda en su estado inicial y para la fiebre Q crónica doxiciclina e hidroxicloroquina.
Si se realiza el tratamiento en las primeras etapas, el pronóstico es generalmente bueno. La etapa crónica requiere un tratamiento prolongado con ATM, al igual que un seguimiento frecuente para cuando se presenten recaídas.

Complicaciones
· Endocarditis.
· Hepatitis crónica y disfunción hepática.
· Encefalitis.

Las personas que se encuentran en riesgo de contraer la enfermedad, como los granjeros y los veterinarios, deben seguir pautas adecuadas de desinfección y eliminar los productos animales potencialmente infecciosos. La pasteurización de la leche también puede ayudar a prevenir la enfermedad y el tratamiento oportuno puede impedir que esta fiebre se vuelva crónica.

ZOONOSIS DE ETIOLOGÍA VIRAL

Rabia

La rabia es considerada una zoonosis (enfermedad de los animales transmisible al hombre), cuyo agente causal es un virus, que tiene la particularidad de ubicarse en células del tejido nervioso donde ocasiona daños muy importantes.
Existen dos ciclos de rabia en la naturaleza: el ciclo urbano cuyos transmisores son el perro y en menor medida el gato y el ciclo silvestre cuyos transmisores son murciélagos, zorrinos, zorros. Otros animales transmisores son ratas, ratones, conejos, ardillas y liebres.
Clínica: existen 2 formas de presentación clínica en el animal:

- Rabia furiosa.
- Rabia paralítica o muda.
- Rabia furiosa: lo más destacado es el cambio de conducta que se produce: el animal se torna inquieto, agresivo, trata de morder continuamente (aún a su dueño) y tiene dificultades para comer y / o beber.
- Rabia paralítica o muda: afecta a equinos y rumiantes. Los síntomas más destacados son: somnolencia, depresión y signo de parálisis.

En el ser humano los síntomas son de tipo nervioso y concluye con parálisis de todos los músculos. El único camino para evitar que estos síntomas aparezcan es efectuar el tratamiento antirrábico, en forma inmediata una vez asegurado el diagnóstico de rabia en el animal.

Diagnóstico virológico

· Asociación epidemiológica con mordedura o exposición a un animal rabioso.
· Histopatología (post-mortem) del animal sospechoso: presencia de los cuerpos de Negri (intracitoplasmáticos) en neuronas de las astas de Ammon, corteza cerebral y células de Purkinje del cerebelo.
· Detección de antígenos virales por inmunofluorescencia directa, ELISA y demostración del ácido nucleico del virus por transcriptasa-reversa (RT) - RCP, en el cerebro del animal sospechoso por biopsia o autopsia.
· Aislamiento viral: en cultivos celulares o desde animales (ratones lactantes) puede ser usado como una técnica confirmatoria pero lleva tiempo (IF directa).
· Serología: en suero y LCR para medir títulos de anticuerpos, solo en etapas avanzadas de la enfermedad.

Prevención
El pilar fundamental de la prevención consiste en la vacunación anual de perros y gatos.

¿Cómo actuar ante una mordedura?
• La persona mordida debe en primer término lavar la herida con abundante agua y jabón y debe ser asistida en forma inmediata por un médico, quien es el único responsable de decidir qué tratamiento se puede aplicar.
• Toda lesión causada por una mordedura y/o arañazo debe ser denunciada ante la autoridad sanitaria competente más próxima.
• Todo animal mordedor, que tenga propietario o que pueda ser capturado, debe ser observado durante 10 días por un profesional médico veterinario, para confirmar la presencia o ausencia de la enfermedad, aún estando vacunado.
• El animal mordedor con propietario deberá ser observado en su domicilio.
• Si un perro o gato fue mordido por otro animal, se debe consultar al médico veterinario y también identificar sin demoras al agresor.
Todas las medidas antes mencionadas no tienen por objeto alarmar a la población sino informar y tratar de prevenir esta importante zoonosis que se está manifestando en diversas áreas del país.

NOMBRE: Rabia, hidrofobia
AGENTE ETIOLÓGICO: Virus de la rabia.
RESERVORIO:
Para la rabia urbana el principal es el perro; en el caso de la rabia salvaje además del perro se incluyen especies de carnívoros y quirópteros (murciélagos).
DISTRIBUCIÓN:
Mundial, aunque en muchos países la enfermedad está erradicada
VÍAS DE ENTRADA
Vía cutánea: el mecanismo de transmisión más frecuente tanto para el hombre como para los animales es por mordedura ya que el virus se encuentra en la saliva del animal infectado. También puede producirse por arañazos o por alguna lesión de la piel.
Vía respiratoria: la entrada por esta vía es poco frecuente pero puede producirse por inhalación de aerosoles, en cuevas donde habitan murciélagos, y en laboratorios, que es en los lugares donde se alcanzan concentraciones mayores del virus.
PERSONAS DE RIESGO:
Conservadores de la naturaleza, investigadores, científicos y personal de laboratorio en general que están en contacto con animales de experimentación, veterinarios, empleados de zoológicos (perreras especialmente los del área de cuarentena), cuidadores de animales en general.
MEDIDAS DE PREVENCIÓN:
Erradicación de la infección en los animales; para ello es necesario un control estricto de la población animal, especialmente la canina, incluida la vacunación.
INMUNIZACIÓN/VACUNA:
Vacunación a los animales.
Inmunización pre y pos-exposición, para el personal con riesgo elevado.

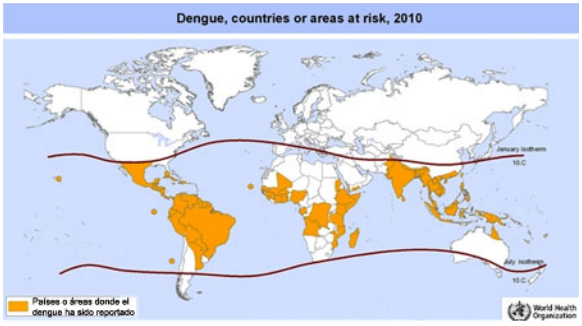
Arbovirus
Arbovirus (Arthropod-Borne-Virus-virus transmitidos por artrópodos), ya que el mecanismo de transmisión es a través de insectos que poseen las patas articuladas.
En el mundo se han aislado más de 500 Arbovirus de los cuales 24 se han encontrado hasta ahora en Argentina.
A la familia Togaviridae, género Alphavirus, pertenecen 5 especies virales, los virus Aurá, Encefalitis Equina del Este (EEE), Mayaro, Encefalitis Equina Venezolana (EEV), y Encefalitis Equina del Oeste (EEO).
En la familia Flaviviridae–género Flavivirus- se han detectado hasta ahora en Argentina 7 Arbovirus, los

virus Encefalitis de San Luis (ESL), Fiebre Amarilla (FA), Ilhéus, Dengue (DEN)1, DEN2 y DEN3 y el virus del Nilo Occidental (NO).
Los Arbovirus de la familia Bunyaviridae son los más numerosos en Sur América y en Argentina. En nuestro país se aislaron 7 agentes del género Orthobunyavirus: Cache Valley, Kairi, Las Maloyas, Melao, San Juan, Turlok y Oropuche y 4 virus, (Resistencia, Barranqueras, Antequeras y Pará) a los que aún no se les asignó el género.

Finalmente del género Vesiculovirus de la familia Rhabdoviridae se han reconocido los virus Calchaquí y Cocal. La denominación de los virus responde a la enfermedad que producen, como la Fiebre Amarilla, o a la enfermedad y el lugar donde se la detectó por primera vez, como los diferentes virus de las encefalitis. Actualmente, los nuevos virus hallados en la naturaleza, se denominan con el nombre del lugar donde se los aisló por primera vez, ya sea una localidad, o un rio o algún otro lugar geográfico.

Dengue

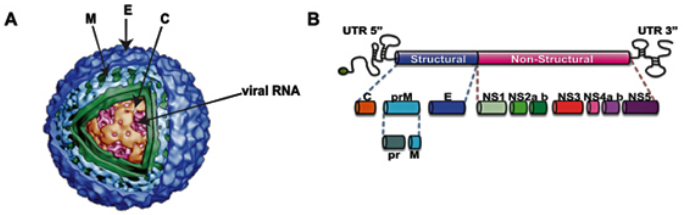
El dengue/dengue hemorrágico es una enfermedad infecciosa emergente de gran importancia en Salud Pública a nivel mundial, principalmente en zonas tropicales y subtropicales.
En la actualidad, se estima que se encuentran en riesgo de adquirir la infección dos quintas partes de la población mundial, es endémica en más de 100 países y se contempla una proyección anual de unos 50-100 millones de casos nuevos/año (Murell, 2011, WHO, 2011).
El virus del dengue se encuentra dentro de la familia Flaviviridae. Es un Arbovirus (Arthropod-Borne-Virus - virus transmitidos por artrópodos), ya que el mecanismo de transmisión es a través de la picadura de un mosquito del género Aedes, siendo el vector principal Aedes aegypti, aunque también ha sido encontrado en otras especies, como Aedes albopictus, Aedes poliniensis y Aedes mediovitattus.



Distribución global del dengue, 2010. Modificado de: WHO, International Travel and Health http://www.who.int/ith/en

Clasificación y estructura

Existen 4 serotipos: DEN-1, DEN-2, DEN-3 and DEN-4. El virión cuenta con 10 proteínas: central (Core), membranal (M), glucoproteína de envoltura (E) y 7 proteínas no estructurales (NS).
El virus tiene forma esférica, con un diámetro aproximado de 50 nm. El genoma viral consiste en una cadena sencilla de RNA de polaridad positiva.
La proteína de la nucleocápside (V2/C, 14 kd) es un polipéptido básico, no glicosilado, asociado con el RNA viral, que da lugar a la nucleocápside, la cual está rodeada por una bicapa de lípidos con la que interacciona una proteína glicosilada transmembranal denominada (V3/E, 53-59 kd), en la que residen las principales actividades biológicas del virus como son: hemaglutinación, neutralización, unión a receptores celulares. La proteína V1/M (8 kd) es un polipéptido no glicosilado, su localización dentro del virión no es clara, pero se postula que es una proteína integral de membrana que puede interaccionar con la proteína V3/E así como con el complejo RNA - proteína V2/C.



Modelo de la organización de los componentes del virus del dengue.
A. Viriones con envoltura, contienen 3 proteínas estructurales; las proteínas de envoltura (E) y membrana (M) - están ancladas a la membrana viral , y la proteína de la cápside (C) cubre el genoma viral
B. El genoma es de una hebra, el RNA con polaridad positiva, con un marco único de lectura 5 y 3′- regiones no traducidas (UTR). Codifica para 3 proteínas estructurales y 7 no estructurales, representadas por las cajas de color. En: Angel RMd, Valle JR-d. Dengue Vaccines: Strongly Sought but Not a Reality Just Yet. PLoS Pathog. 2013; 9(10): e1003551.

Replicación

El virus entra en la célula por endocitosis mediada por receptores. La cubierta se funde con la membrana del endosoma. Al acidificarse el medio de la vesícula se libera la nucleocápside en el citoplasma. Los ribosomas se unen al genoma viral, fabricándose las poliproteínas tempranas p230 y p270. Las poliproteínas se fraccionan para dar lugar a las proteínas no estruc-

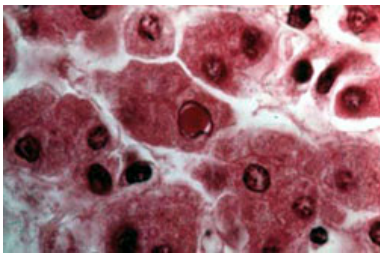
turales, entre las que se incluyen una polimerasa que transcribe el genoma, formando una plantilla de RNA negativo.
La proteína C (cápside) se traduce primero exponiendo el lugar de escisión sobre el que actuará una proteasa, y luego un péptido señalizador para la asociación con el sistema retículo endoplásmico. Las glucoproteínas E se sintetizan más adelante, se glucosilan, se procesan en el aparato de Golgi y se transfieren a la membrana plasmática. Las proteínas de la cápside se ensamblan sobre el genoma de 42S y se asocian a regiones de la membrana citoplasmática que contiene las proteínas E1-3 y el virus se libera por lisis celular.

Interacción hospedero-virus

Las hembras del mosquito Aedes adquieren el virus del dengue al picar a un hospedero vertebrado virémico. El virus infecta las células epiteliales del intestino medio del mosquito, se disemina a través de la lámina basal hacia la circulación e infecta las glándulas salivales; en este sitio se establece una infección persistente con replicación importante en estas células. Tras picar al hospedero, la hembra del mosquito regurgita saliva llena de virus hacia la sangre de la víctima. El virus circula en forma libre por el plasma y entra en contacto con células susceptibles, tales como células endoteliales de capilares, macrófagos, monocitos y otras células del sistema fagocítico mononuclear.

Aedes aegypti hembra. Picadura.
WHO/TDR/Stammers

El riesgo de dengue hemorrágico (DH) es mayor en el caso del serotipo DEN-2, seguido de DEN-3, DEN-4 y DEN-1. Los individuos infectados con un serotipo mantienen una memoria inmunológica prolongada que evita que sean infectados por el mismo serotipo y hay un corto periodo de protección cruzada contra los serotipos heterólogos que oscila entre 2-3 meses, después del cual son completamente susceptibles a la infección con los otros 3 serotipos. Desde luego, la manifestación de la enfermedad dependerá también de otros factores, tales como el serotipo que ha infectado al paciente, la raza, la respuesta inmune.
Los anticuerpos de infecciones primarias son en su mayor parte de la clase IgM y están dirigidos principalmente contra los determinantes antigénicos específicos del virus dengue. Las infecciones secundarias inducen anticuerpos IgG dirigidos contra los antígenos del grupo Flavivirus. Los complejos antígeno-anticuerpo que se forman durante una infección secundaria facilitan la infección de nuevas células mononucleares. Los monocitos infectados se vuelven blanco de los mecanismos inmunes y al ser atacados liberan los mediadores químicos que aumentan la permeabilidad capilar, activan al complemento, liberan tromboplastina y en conjunto provocan los cambios fisiopatológicos propios de la fiebre hemorrágica del dengue.
El virus del dengue se replica en células de la médula ósea, hígado, tejido linfoide, bazo y en los histiocitos de la piel. A mayor número de células infectadas mayor severidad en las manifestaciones clínicas de la enfermedad.



Corte histológico hepático. Cuerpo de inclusión en membrana nuclear. WHO /TDR/Wellcome Trust

Las principales anormalidades fisiopatológicas son causadas por la activación de los fagocitos mononucleares. La nutrición, el sexo y algunos factores genéticos pueden ser importantes en la modulación de infecciones individuales mediante el efecto regulador de los linfocitos T o de la función de los fagocitos mononucleares.

Manifestaciones clínicas

Fiebre elevada, de inicio agudo, con una duración promedio de 6-7 días, cefalea frontal, dolor retroorbital, mialgias y artralgias muy intensas (“fiebre quebrantahuesos”), náusea, vómito, diarrea, exantema maculopapular, escarlatiniforme, con petequias de color rojo brillante.

En los niños se caracteriza por cuadro febril, enrojecimiento de la orofaringe, rinitis moderada, tos, molestias gastrointestinales leves, y exantema. Es importante realizar el diagnóstico diferencial con sarampión y otras infecciones de vías respiratorias altas. Un porcentaje elevado de casos de dengue hemorrágico ocurre en este grupo etario.

El dengue hemorrágico es una forma severa de la enfermedad. Se caracteriza por:

Fiebre elevada de instalación súbita y que persiste aproximadamente por una semana, trombocitopenia, trastornos hemorrágicos que traducen como petequias, púrpura, hematomas, equimosis, prueba del torniquete positiva, sangrado gingival, epistaxis, hematemesis, melena, hematoquecia, hematoria, ascitis, derrame pleural, hematuria microscópica.

Pueden presentarse convulsiones, hepatomegalia. Sin tratamiento, puede aparecer un síndrome de choque.

Prueba del torniquete:

Se infla el manguito de presión sanguínea hasta un punto intermedio entre la presión sistólica y diastólica durante 5 minutos

Prueba positiva: 20 o más petequias por pulgada cuadrada (6.25 cm2).

Petequias. Imagen: Dengue, CDC.

La extravasación de plasma es la diferencia crítica entre el dengue hemorrágico y la fiebre de dengue. Se debe al aumento de la permeabilidad vascular y se manifiesta por hematocrito elevado (20% o más por encima del promedio), disminución plaquetaria (<100 000/mm3), disminución de la albúmina, derrame pleural (u otro tipo de derrame), insuficiencia circulatoria, que se aprecia con pulso rápido y débil, tensión diferencial disminuida o hipotensión, con piel fría y agitación.

Las plaquetas son células anucleadas de 2-4 micras de diámetro; en condiciones normales circulan 150 000-450 000/ mm3, tienen una vida media de 7-10 días, y su función principal es la formación del coágulo hemostático.

Grado 1

Fiebre y síntomas constitucionales no específicos. La prueba del torniquete positiva es la única manifestación hemorrágica.

Grado 2

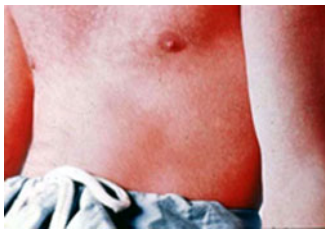
Manifestaciones del grado 1 + sangrado espontáneo.

Grado 3

Señales de insuficiencia circulatoria (aceleración/ debilitamiento del pulso, estrechamiento de la tensión diferencial, hipotensión, piel fría/ húmeda).

Grado 4

Choque profundo (pulso y presión arterial no detectables).



Erupción en paciente. WHO/TDR/Wellcome Trust

Hemorragia subcutánea. Dengue hemorrágico. WHO/TDR/STI/Hatz

Diagnóstico de Laboratorio de Dengue

La confirmación de laboratorio se realiza mediante pruebas que para detectar la presencia del virus, como es el aislamiento viral y pruebas moleculares o la determinación de anticuerpos a través de pruebas serológicas.

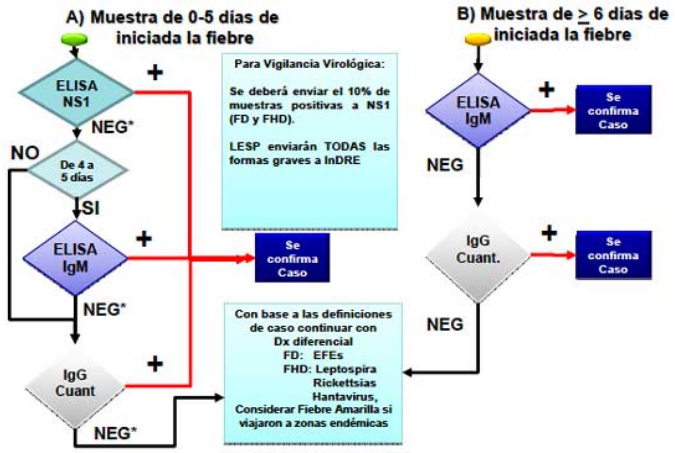
Entre las pruebas serológicas, se utilizan, con sus respectivas ventajas y desventajas: Prueba de Neutralización en Placa (NT), ELISA IgM e IgG, Inmunocromatografia Rápida.

La determinación de anticuerpos IgM e IgG es de utilidad para determinar si se trata de una infeción primaria o secundaria; además, los estudios de IgG pueden determinar si a pesar de tratarse de una infección secundaria, también hay una infección reciente.

Algunos de los métodos moleculares que se emplean en algunos centros de investigación son: RT-RCP, electroforesis en gel de agarosa y secuenciación Automática.

Epidemiología

En los últimos cuatro años, los esfuerzos en Salud Pública permitieron que Argentina redujera en un 90 por ciento los casos de dengue, una de las enfermedades



Procedimiento para la aplicación del nuevo algortimo para diagnóstico de laboratorio de fiebre por dengue y fiebre hemorrágica por dengue. De: CENAVECE, InDRE, RNLSP, 2008.

transmitidas por insectos cuyo impacto en términos de morbilidad y mortalidad es el tema central elegido por la Organización Panamericana de la Salud y la Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS).

En América, 35 países que concentran casi toda la población del continente conviven con el mosquito Aedes aegypti, el transmisor del dengue. Y durante las últimas décadas, América Latina se convirtió en la región con las cifras anuales reportadas más altas en el mundo, según los datos de la OPS y la OMS. Además, remarcaron que fenómenos como el cambio climático, de migración, el aumento del tráfico aéreo y terrestre o la expansión urbana descontrolada también pueden incidir en la expansión de estas enfermedades transmitidas por insectos.

En la Argentina los casos notificados de dengue por año fueron, incluyendo casos sospechosos, probables, confirmados y descartados: 2010 n=6373, 2011 n= 3561, 2012 n= 3030, 2013 n=9317, 2014 n= 3344, 2015=4709, 2016=76734.

En 2016 se notificaron, como se dijo, 76.734 casos de dengue incluyendo sospechosos, probables, confirmados y descartados. De ellos 41.207 correspondieron a casos confirmados o probables autóctonos distribuidos en 15 jurisdicciones del país, mientras que 2681 corresponden a casos confirmados y probables importados, distribuidos en 23 provincias.

Tratamiento

No existen medicamentos antivirales de acción efectiva contra este virus. Se ha demostrado que el interferón alfa administrado durante el comienzo de la enfermedad es capaz de evitar la evolución hacia las complicaciones, pero este producto biológico no es aplicable (por razones de costo y disponibilidad) en forma masiva como requeriría una epidemia.

La vacuna tetravalente se encuentra en etapa de ensayo clínico II en Latinoamérica (Laboratorios Sanofi Pasteur).

Durante la etapa febril se utilizan analgésicos (no aspirina por su acción antiagregante plaquetaria) e ingestión de abundantes líquidos.

Si hay sangrado discreto y las plaquetas > 100 000 mm3 se aplica tratamiento compresivo local. Si los sangrados son abundantes y las plaquetas están francamente por debajo de 100 000 mm^3, se debe considerar transfusión de plaquetas. Pudiera utilizarse sangre fresca en el caso raro que las hemorragias hubieran sido tan intensas como para hacer descender las cifras de hemoglobina y hematocrito.

Ante signos de alarma es necesario canalizar una vena e iniciar la administración de líquidos por vía intravenosa; si se presenta choque hipovolémico se debe mantener la diuresis en 30ml/m2/hora y una ventilación adecuada.

Prevención y control

Es necesario fortalecer los programas para la prevención del dengue y la vigilancia de las poblaciones de vectores y casos en humanos para reducir la densidad de vectores y la transmisión de la enfermedad, incrementar la capacidad de diagnóstico y la vigilancia clínica y epidemiológica, organizar suministros de agua seguros y confiables, incrementar el personal entrenado y fortalecer la investigación sobre la fisiopatología de las infecciones de dengue, así como mejorar la educación comunitaria en materia de salud, promover prácticas de higiene e incrementar la conciencia y capacidad de acción de la comunidad.

Se encuentra en evaluación la programación de vacunación en 8 países endémicos, en Asia (India, Sri Lanka, Tailandia, Vietnam) y Latinoamérica (Brasil, Colombia, México, Nicaragua).

Uno de los productos con mayor avance es la vacuna tetravalente ChimeriVax Dengue (CVD1-4) de Sanofi Pasteur. La evaluación del ensayo clínico Fase II solo demostró un 30 % de efectividad (promedio) y eficacia ante los serotipos DENV1, 3 y 4 y se considera que se requieren más pruebas, modificaciones y/o ensayos clínicos en países endémicos de dengue. La seguridad de esta vacuna solamente podrá constatarse después de un seguimiento a largo plazo. (Halstead.

2012; Sabchareon et al., 2012; Douglas et al., 2013; Swaminathan et al., 2013).
Otras vacunas quiméricas corresponden, entre otras, a la desarrollada por los U.S. National Institutes of Health y la elaborada por Inviragen, ambas con diversos efectos secundarios y una pobre respuesta serológica.
Por otra parte, gracias a los modelos utilizados y a trabajos de campo, existe la posibilidad de que un uso prudente de la bacteria endosimbiótica Wolbachia, pueda reducir la transmisión de manera significativa, al incidir en la reproducción de los insectos transmisores.

Fiebre Chikungunya (Virus Chikungunya)

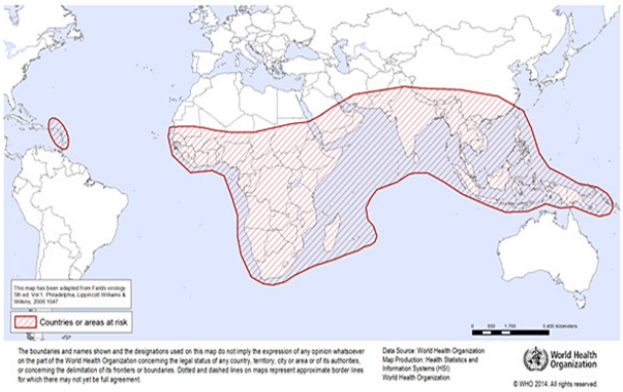
Curiosidades

• La fiebre chikungunya o asimilada en nuestro país como "chikunguña" es una enfermedad vírica transmitida al ser humano por mosquitos infectados. Además de fiebre y fuertes dolores articulares, produce otros síntomas, tales como dolores musculares, dolores de cabeza, náuseas, cansancio y erupciones cutáneas.
• Algunos signos clínicos de esta enfermedad son iguales a los del dengue, con el que se puede confundir en zonas donde éste es frecuente.
• Como no tiene tratamiento curativo, el tratamiento se centra en el alivio de los síntomas.
• Un factor de riesgo importante es la proximidad de las viviendas a lugares de cría de los mosquitos.
• La enfermedad se da en África, Asia y el subcontinente indio. En los últimos decenios los vectores de la enfermedad se han propagado a Europa y las Américas. En 2007 se notificó por vez primera la transmisión de la enfermedad en Europa, en un brote localizado en el nordeste de Italia.

La fiebre chikungunya es una enfermedad vírica transmitida al ser humano por mosquitos. Se describió por primera vez durante un brote ocurrido en el sur de Tanzanía en 1952.
Se trata de un virus ARN del género Alfavirus, familia Togaviridae. "Chikungunya" es una voz del idioma Kimakonde que significa "doblarse", en alusión al aspecto encorvado de los pacientes debido a los dolores articulares.

Epidemiología

Transmisión
La fiebre chikungunya se ha detectado en casi 40 países de Asia, África, Europa y las Américas.



Áreas de riesgo

El virus se transmite de una persona a otra por la picadura de mosquitos hembra infectados. Generalmente los mosquitos implicados son Aedes aegypti y Aedes albopictus dos especies que también pueden transmitir otros virus, entre ellos el del dengue. Estos mosquitos suelen picar durante todo el periodo diurno, aunque su actividad puede ser máxima al principio de la mañana y al final de la tarde. Ambas especies pican al aire libre, pero Ae. aegypti también puede hacerlo en ambientes interiores.
La enfermedad suele aparecer entre 4 y 8 días después de la picadura de un mosquito infectado, aunque el intervalo puede oscilar entre 2 y 12 días.

Brotes

La enfermedad se da en África, Asia y el subcontinente indio. En África las infecciones humanas han sido relativamente escasas durante varios años, pero en 1999-2000 hubo un gran brote en la República Democrática del Congo, y en 2007 hubo un brote en Gabón.
En febrero de 2005 comenzó un importante brote en las islas del Océano Índico, con el cual se relacionaron numerosos casos importados en Europa, sobre todo en 2006 cuando la epidemia estaba en su apogeo en el Océano Índico. En 2006 y 2007 hubo un gran brote en la India, por el que también se vieron afectados otros países de Asia Sudoriental.
Desde 2005, la India, Indonesia, las Maldivas, Myanmar y Tailandia han notificado más de 1,9 millones de casos. En 2007 se notificó por vez primera la transmisión de la enfermedad en Europa, en un brote localizado en el nordeste de Italia en el que se registraron 197 casos, confirmándose así que los brotes transmiti-

dos por Ae. albopictus son posibles en Europa.
En diciembre de 2013 Francia notificó dos casos autóctonos confirmados mediante pruebas de laboratorio en la parte francesa de la isla caribeña de St. Marteen. Desde entonces se ha confirmado la transmisión local en la parte holandesa de la isla (St. Marteen), Anguila, Dominica, Guayana Francesa, Guadalupe, Islas Vírgenes Británicas, Martinica y St. Barthèlemy. Aruba solo ha notificado casos importados.
Este es el primer brote documentado de fiebre chikungunya con transmisión autóctona en las Américas.
Hasta octubre de 2014 se habían registrado más de 776 000 casos sospechosos de fiebre chikungunya en las islas del Caribe y en algunos países de América del Sur; durante el mismo periodo se han atribuido 152 muertes a esta enfermedad. En México y en los Estados Unidos de América también se han registrado casos importados. El 21 de octubre de 2014 Francia confirmó 4 casos de infección autóctona en Montpellier. Esta reciente reemergencia de CHIKV ha aumentado la preocupación y el interés respecto al impacto de este virus sobre la salud pública mundial.
En enero de 2016 se reportó fiebre chikungunya en nuestro país.

Más información sobre los vectores

Tanto Aedes aegypti como Aedes albopictus se han visto implicados en grandes brotes de fiebre chikungunya. Mientras que Ae. aegypti está confinado a las zonas tropicales y subtropicales, Ae. albopictus también está presente en regiones templadas, e incluso templadas-frías. En los últimos decenios Ae. albopictus ha salido de Asia y se ha establecido en algunas zonas de África, Europa y las Américas.
En comparación con Ae. aegypti la especie Ae. albopictus prospera en una variedad más amplia de acumulaciones de agua que le sirven de criaderos, tales como cáscaras de coco, vainas de cacao, tocones de bambú, huecos de árboles, charcos en rocas, además de depósitos artificiales tales como neumáticos de vehículos o platos bajo macetas.
Esta diversidad de hábitats explica la abundancia de Ae. albopictus en zonas rurales y periurbanas y en parques urbanos sombreados. Ae. aegypti está más estrechamente asociado a las viviendas y tiene criaderos en espacios interiores, por ejemplo en floreros, recipientes de agua y tanques de agua en baños, además de los mismos hábitats exteriores artificiales que Ae. albopictus.
En África se han encontrado varios otros mosquitos vectores de la enfermedad, entre ellos especies del grupo A. furcifer-taylori y A. luteocephalus Hay indicios de que algunos animales diferentes de los primates (roedores, aves y pequeños mamíferos) también pueden actuar como reservorios.

Signos y síntomas

La fiebre chikungunya se caracteriza por la aparición súbita de fiebre, generalmente acompañada de dolores articulares. Otros signos y síntomas frecuentes son: dolores musculares, dolores de cabeza, náuseas, cansancio y erupciones cutáneas. Los dolores articulares suelen ser muy debilitantes, pero generalmente desaparecen en pocos días.
La mayoría de los pacientes se recuperan completamente, pero en algunos casos los dolores articulares pueden durar varios meses, o incluso años. Se han descrito casos ocasionales con complicaciones oculares, neurológicas y cardiacas, y también con molestias gastrointestinales.
Las complicaciones graves no son frecuentes, pero en personas mayores la enfermedad puede contribuir a la muerte. A menudo los pacientes solo tienen síntomas leves y la infección puede pasar inadvertida o diagnosticarse erróneamente como dengue en zonas donde este es frecuente.

Diagnóstico

Para establecer el diagnóstico se pueden utilizar varios métodos. Las pruebas serológicas, como la inmunoadsorción enzimática (ELISA), pueden confirmar la presencia de anticuerpos IgM e IgG contra el virus chikungunya. Las mayores concentraciones de IgM se registran entre 3 y 5 semanas después de la aparición de la enfermedad, y persisten unos 2 meses.
Las muestras recogidas durante la primera semana tras la aparición de los síntomas deben analizarse con métodos serológicos y virológicos (RT-RCP). El virus puede aislarse en la sangre en los primeros días de la infección. Existen diversos métodos de reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscriptasa (RT–RCP), pero su sensibilidad es variable. Algunos son idóneos para el diagnóstico clínico.
Los productos de RT–RCP de las muestras clínicas también pueden utilizarse en la genotipificación del virus, permitiendo comparar muestras de virus de diferentes procedencias geográficas.

Tratamiento

No existe ningún antivírico específico para tratar la

fiebre chikungunya. El tratamiento consiste principalmente en aliviar los síntomas, entre ellos el dolor articular, con antipiréticos, analgésicos óptimos y líquidos. No hay comercializada ninguna vacuna contra el virus chikungunya.

Para luchar contra la fiebre chikungunya, la OMS:

• formula planes basados en evidencias para gestionar los brotes;
• proporciona apoyo y orientación técnica a los países para que gestionen eficazmente los casos y los brotes;
• presta apoyo a los países para que mejoren sus sistemas de notificación;
• junto con algunos de sus centros colaboradores, proporciona formación a nivel regional sobre el tratamiento, el diagnóstico y el control de los vectores;
• Publica directrices y manuales para los Estados Miembros sobre el tratamiento y el control de los vectores.

La OMS anima a los países a crear y mantener capacidades que les permitan detectar y confirmar casos, atender a los pacientes y poner en práctica estrategias de comunicación social para reducir la presencia de los mosquitos vectores.

Virus de Zika

Curiosidades:
• Esta enfermedad es causada por un virus transmitido por mosquitos del género Aedes.
• Los pacientes con enfermedad por el virus de Zika suelen presentar fiebre no muy elevada, exantema y conjuntivitis, síntomas que suelen durar entre 2 y 7 días.
• Por el momento no hay vacunas ni tratamientos específicos para esta enfermedad.
• La mejor forma de prevenirla consiste en la protección frente a las picaduras de los mosquitos.
• Se sabe que el virus circula en África, las Américas, Asia y el Pacífico.

El Virus de Zika es un virus emergente transmitido por mosquitos que se identificó por vez primera en Uganda, en 1947 en macacos de la India a través de una red de monitoreo de la fiebre amarilla selvática. Posteriormente, en 1952, se identificó en el ser humano en Uganda y la República Unida de Tanzania. Se han registrado brotes de enfermedad por este virus en África, las Américas, Asia y el Pacífico. En un corto periodo de tiempo desde 2014, la infección por ZIKV fue confirmada en varios estados de Brasil, diseminándose a numerosos países en América Latina y el Caribe, así como también a Estados Unidos y Europa. El impacto de esta co-circulación de DENV, CHKV y ZIKV aunque no se conoce del todo, tendría implicancias en el diagnóstico, evolución y manejo clínico de los pacientes. Esto sumado al reporte de pequeños brotes de otros Arbovirus, como el de las fiebres Mayaro y del Nilo Occidental y la fiebre amarilla.

• Género: Flavivirus.
• Vector: mosquitos Aedes (que habitualmente pican por la mañana y al atardecer/anochecer).
• Reservorio: desconocido.

Signos y síntomas
El período de incubación (tiempo transcurrido entre la exposición y la aparición de los síntomas) de la enfermedad por el Virus de Zika no está claro, pero probablemente sea de pocos días. Los síntomas son similares a los de otras infecciones por Arbovirus, entre ellas el dengue, y consisten en fiebre, erupciones maculopapulares, conjuntivitis, mialgias, artralgias, malestar y cefaleas; suelen durar entre 2 y 7 días.
Durante los grandes brotes que se han producido en la Polinesia francesa en 2013 y Brasil en 2015, las autoridades sanitarias nacionales notificaron potenciales complicaciones neurológicas y autoinmunes de la enfermedad por el Virus de Zika. Recientemente, en el Brasil, las autoridades sanitarias locales han observado un aumento de las infecciones por este virus en la población general, así como un aumento de los recién nacidos con microcefalia en el nordeste del país.
Los organismos que están investigando estos brotes están encontrando pruebas cada vez más numerosas de una relación entre el Virus de Zika y la microcefalia, aunque son necesarias más investigaciones para entender esa relación. Asimismo, se están investigando otras causas posibles.

Transmisión
El Virus de Zika se transmite a las personas a través de la picadura de mosquitos infectados del género Aedes, y sobre todo de Aedes aegypti en las regiones tropicales. Este mosquito es el mismo que transmite

el dengue, la fiebre chikungunya y la fiebre amarilla. Los primeros brotes de enfermedad por el Virus de Zika se describieron en el Pacífico en 2007 y 2013 (Yap y Polinesia francesa, respectivamente), y en las Américas (Brasil y Colombia) y África (Cabo Verde) en 2015. A ello hay que añadir que más de 20 países de las Américas han notificado infecciones esporádicas por el Virus de Zika, lo cual indica que este está teniendo una rápida expansión geográfica.

Diagnóstico

El Virus de Zika se diagnostica mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa) en tiempo real y aislamiento en muestras de sangre. El diagnóstico serológico puede resultar difícil, y el virus puede presentar reacciones cruzadas con otros Flavivirus, como los virus del dengue, del Nilo Occidental y de la fiebre amarilla.

Prevención

Los mosquitos y sus lugares de cría suponen un importante factor de riesgo de infección por el Virus de Zika. La prevención y el control dependen de la reducción del número de mosquitos a través de la reducción de sus fuentes (eliminación y modificación de los lugares de cría) y de la disminución de los contactos entre los mosquitos y las personas.

Para ello se pueden utilizar repelentes de insectos, ropas (preferentemente de colores claros) que cubran el cuerpo tanto como sea posible, barreras físicas como mosquiteros o el cierre de puertas y ventanas, y mosquiteros de cama.

También es importante vaciar, limpiar o cubrir los utensilios que puedan acumular agua, como cubos, macetas o neumáticos, eliminando así lugares de cría de mosquitos.

Hay que prestar especial atención y ayuda a quienes no pueden protegerse adecuadamente por si solos, como los niños, los enfermos o los ancianos.

Durante los brotes, las autoridades sanitarias pueden recomendar la fumigación con insecticidas. Los insecticidas recomendados por el Plan OMS de Evaluación de Plaguicidas también se pueden utilizar como larvicidas para tratar recipientes de agua relativamente grandes.

Los viajeros deben adoptar las precauciones básicas descritas anteriormente para protegerse de las picaduras de mosquitos.

Tratamiento

La enfermedad por el Virus de Zika suele ser relativamente leve y no necesita tratamiento específico. Los pacientes deben estar en reposo, beber líquidos suficientes y tomar analgésicos comunes para el dolor. Si los síntomas empeoran deben consultar al médico. En la actualidad no hay vacunas. Las complicaciones neurológicas son graves: síndrome de Guillén-Barré y microcefalia en recién nacidos de madres expuestas al virus por picadura del mosquito. Brasil ha reportado casos de ambas patologías.

Recomendaciones de la OMS:

La OMS colabora con los países para:

• Definir las investigaciones sobre la enfermedad por el Virus de Zika y darles prioridad convocando a expertos y asociados.
• Potenciar la vigilancia del Virus de Zika y sus posibles complicaciones.
• Fortalecer la capacidad en la comunicación de riesgos para ayudar a los países a cumplir los compromisos adquiridos en virtud del Reglamento Sanitario Internacional.
• Proporcionar capacitación sobre la gestión clínica, el diagnóstico y el control de vectores, en particular a través de algunos centros colaboradores de la OMS.
• Fortalecer la capacidad de los laboratorios para detectar el virus.
• Ayudar a las autoridades sanitarias a aplicar las estrategias de control de los vectores destinadas a reducir las poblaciones de mosquitos del género Aedes, por ejemplo ofreciendo larvicidas para el tratamiento de aguas estancadas que no pueden limpiarse, vaciarse o cubrirse.
• Ayudar a las autoridades sanitarias a aplicar las estrategias de control de los vectores destinadas a reducir las poblaciones de mosquitos del género Aedes, por ejemplo ofreciendo larvicidas para el tratamiento de aguas estancadas que no pueden limpiarse, vaciarse o cubrirse.
• Elaborar recomendaciones de atención clínica y seguimiento de las personas infectadas por el Virus de Zika, en colaboración con expertos y otros organismos de salud.

Fiebre Amarilla

La fiebre amarilla es una enfermedad vírica aguda, hemorrágica, transmitida por mosquitos infectados del género Aedes. El virus es endémico en las zonas

tropicales de África y América Latina. Con más de 5000 casos que se sospecha que son de fiebre amarilla y más de 400 muertes notificadas en Angola y la República Democrática del Congo, conseguir un diagnóstico exacto es fundamental para salvar vidas y poner fin al brote.

Una vez contraído el virus y pasado el periodo de incubación de 3 a 6 días, la infección puede cursar en una o dos fases. La primera, aguda, suele causar fiebre, mialgias con dolor de espalda intenso, cefaleas, escalofríos, pérdida de apetito y náuseas o vómitos. Posteriormente, la mayoría de los pacientes mejoran y los síntomas desaparecen en 3 o 4 días. Sin embargo, el 15% de los pacientes entran a las 24 horas de la remisión inicial en una segunda fase, más tóxica. Vuelve la fiebre elevada y se ven afectados diferentes sistemas orgánicos. La mitad de los pacientes que entran en la fase tóxica mueren en un plazo de 10 a 14 días, y los demás se recuperan sin lesiones orgánicas importantes.

Es difícil de diagnosticar porque provoca síntomas similares a los de varias otras enfermedades, como el paludismo y el dengue. Es esencial que los resultados de laboratorio sean fiables y rápidos para poder adoptar decisiones en casi todos los aspectos de los servicios de salud, especialmente durante un brote epidémico. Diagnosticar la fiebre amarilla es complicado. Con frecuencia hay retrasos entre la recogida y el transporte de la muestra y su análisis.

Para diagnosticar la fiebre amarilla se toma una muestra de sangre con objeto de detectar el virus. En etapas posteriores de la enfermedad, esto es más difícil. En esos casos, se necesitan análisis de sangre más sofisticados (denominados ELISA y PRNT o prueba de neutralización por reducción de placa), que solo pueden efectuarse en laboratorios especializados.

No hay tratamiento curativo para la fiebre amarilla. La vacunación es la medida preventiva más importante contra la fiebre amarilla. La vacuna es segura, asequible, muy eficaz, y una sola dosis es suficiente para conferir inmunidad y protección de por vida, sin necesidad de dosis de recuerdo.

Debido a que esta enfermedad puede ser mortal, la Organización Mundial de la Salud recomienda la vacunación a todas las personas a partir de los 9 meses de edad, que viajen a zonas donde exista evidencia de transmisión persistente o periódica de este virus.

Para la indicación de la vacuna se tiene en cuenta el riesgo de infección en el lugar del viaje, los requisitos de entrada al país de destino y las características de la persona que viajará, como la edad o el estado inmunitario, ya que estos factores pueden generar efectos adversos graves relacionados con la vacuna. Por ello, resulta fundamental realizar una consulta médica, al menos cuatro semanas antes de la partida, para recibir las recomendaciones correspondientes.

Las áreas de riesgo corresponden a distintas regiones de Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Guyana, Guyana Francesa, Panamá, Paraguay, Perú, Suriname, Trinidad y Tobago, Venezuela, África y el Sudeste Asiático. También es necesaria en algunas provincias argentinas.

Por otra parte, además de la vacunación, se recomienda adoptar las medidas habituales de prevención de picaduras de mosquitos, debido al riesgo de transmisión de otras infecciones endémicas como Dengue, Chikungunya y Zika. También es importante consultar rápidamente al médico ante la aparición de fiebre, escalofríos, dolor de cabeza, dolor muscular, náuseas o vómitos y erupciones en la piel, durante el viaje o al regreso.

Encefalopatías espongiformes (EE)

El “mal de las vacas locas” fue diagnosticado por primera vez en el Reino Unido en abril de 1985. Más de una década después, en 1996, aparecieron en el mismo país los primeros casos identificados de la versión humana de la misma dolencia, que fue deno-minada nueva variante de la enfermedad de Creutzfeldt – Jakob.

Posteriormente se han detectado nuevos casos de reses enfermas de este mal en otros países europeos como Irlanda, Francia, Portugal, Alemania, Italia o España, entre otros.

Hay dos hipótesis acerca del origen de la enfermedad. La primera de ellas afirma que, a principios de los años ochenta, el método que usaban los productores británicos para reutilizar en los piensos los despojos de las ovejas, fue alterado: la temperatura se redujo y se eliminaron algunos solventes. Como consecuencia, los priones (agentes etiológicos) que infectaban a las ovejas dejaron de ser inactivados en los piensos y contaminaron masivamente al ganado vacuno. La segunda hipótesis dice que la enfer-medad se originó en un linaje de vacas por una mutación en el gen que fabrica el prión.

La Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) o enfermedad de las vacas locas, es una enfermedad producida por una proteína infecciosa, llamada prión,

que transforma a las proteínas sanas en dañinas alterando su forma.
Este mal se encuadra dentro de las denominadas encefalopatías espongiformes transmisibles, que incluye también enfermedades como la del scrapie, que afecta a ovejas y cabras y la enfermedad crónica caquectizante del ciervo y del alce. Además, existe un grupo de enfermedades que afectan al hombre como el kuru humano o la enfermedad de Creutzfeldt - Jacob (ECJ).
Al tratarse de una enfermedad que afecta al tejido nervioso, produce alteraciones en el comportamiento de los animales como estados de nerviosismo, comportamiento agresivo y reticencias a sortear dificultades (atravesar puertas, subir o bajar peldaños). También, produce cambios locomotores y neurológicos como posturas anormales de cabeza, pérdida de peso y disminución de la producción láctea.
El proceso es lento y progresivo afectando a reses adultas, mayores de 30 meses, de ambos sexos y preferentemente en explotaciones de ganado lechero.
La EEB se transmite al hombre por el consumo de animales enfermos. Los tejidos de mayor riesgo, denominados Materiales Específicos de Riesgo (MER), son el cerebro, la médula espinal, los ojos, amígdalas, bazo y el intestino.
Hasta el momento se han detectado 90 casos en el Reino Unido y otros tres en Francia.
La enfermedad no tiene tratamiento, siendo incurable y mortal tanto en las reses como en los seres humanos. Puede tardar más de 10 años en manifestar sus síntomas.

Conclusiones

Las enfermedades transmisibles no conocen fronteras ni límites, y de la misma forma en que se controlan temporalmente o desaparecen, surgen o se introducen otras nuevas, que amenazan al ser humano exigiendo un esfuerzo constante y continuo de la población en general y de distintas profesiones involucradas en su tratamiento o pre-vención (investigadores, médicos, veterinarios, enfermeras, políticos y estrategas públicos).
En los últimos años, el interés por las enfermedades transmisibles de los animales se ha incrementado notablemente. Las razones para ello son muy variadas, pero cabría resumirlas básicamente en el notable aumento de la población (cada vez más concentrada y demandando la producción de más y más alimentos) y su avance a regiones antes sólo habitadas por animales e insectos, lo que ha multiplicado el potencial infeccioso de los llamados vectores.
Sin duda, las enfermedades comunes a las especies domésticas y salvajes conforman el grupo que recibe una mayor atención, debido a las repercusiones potenciales que éstas pueden tener en materia de sanidad animal y los aspectos comerciales con ella relacionados (como el caso del mal de las vacas locas). Sin embargo también es importante considerar enfermedades que aún identificadas siguen causando grandes desastres en regiones subdesarrolladas del planeta, como el caso de la malaria.
Así, las principales estrategias para mantenerlas en un límite aceptable se han relacionado con:

· La coordinación entre distintas instituciones: locales, regionales, nacionales e internacionales.
· Identificación y estratificación de las regiones con base en criterios de riesgo epidemiológico, ecológico y socioeconómico.
· Promoción y capacitación sobre las acciones de autocuidado, que la población puede realizar a nivel individual y familiar, para disminuir el contacto con insectos vectores.
· Eliminación de los parásitos, suministrando medicamentos a los casos, contactos y portadores, en forma permanente e intensiva.
· Atención oportuna de casos de intoxicación por picaduras.
· Disminución de las poblaciones de insectos vectores mediante la aplicación de agentes químicos, biológicos y físicos.
· Promoción del mejoramiento de viviendas y del saneamiento básico entre la población, para disminuir el contacto intradomiciliario con vectores.
· Difusión, aplicación y vigilancia del cumplimiento de las normas respectivas.

Bibliografía

• Acha, P.N., Szyfres, B. 1977. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Organización Panamericana de la Salud. Washigton DC, Estados Unidos.
• Bergoglio R, MS Sabattini, M Contigiani et al. Brote inédito de Encefalitis por Flavivirus en la ciudad de Córdoba. Rev. Arg. Zoonosis. Nº 1. 2006; 1-35. 2.
• D. Palacios-Martínez, R.A. Díaz-Alonso, L.J. Arce-Segura, E. Díaz-Vera.Chikungunya, una enfermedad vírica emergente. Propuesta de un algoritmo de manejo clínico. Semergen Vol 41(4): 2015; 181-

238
• H. Krauss (Editor), H. G. Schieffer (Editor), W. Slenczka (Editor), A. Weber (Editor), H. Zahner (Editor) 2003. Zoonoses. Infectious Diseases Transmissible from Animals to Humans. 3rd Edition, 456 pages. ASM Press. American Society for Microbiology, Washington DC, USA. ISBN: 978-1-555-81236-2
• Littvik, A y col. 2015. Tras las Huellas de un Mundo Invisible. Sima Editora 5ª Ed. Córdoba, República Argentina.
• OMS. 1982. Zoonosis bacterianas y víricas. Organización Mundial de la Salud. Ginebra, Suiza.
• OPS. Enfermedades Infecciosas Nuevas, Emergentes y Reemergentes. Bol. Epidemiol. 1995: 16 (3): 1-7.
• Parrish, R.B. Zoonoses: Animal Diseases and Man. Prof. Saf. 1979: 24: 15-17.
• Sabattini MS, G Avilés, TP Monath. Historical, epídemiological and ecological aspects of arboviruses in Argentina. In: An overveiw of Arbovirology in Brazil and neighbouring countries. Ed. Amelia PA Travassos da Rosa et al., 1998; 113- 153.
• Soc. Esp. de Enf. Infec. y Microbiol. 2006. Clín. Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Madrid, España. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Ed. Panamericana. © 2006 EAN: 9788479039219
• Tortora, G. et al. Introducción a la Microbiología. 2017, Editorial Panamericana, 12ª Ed. CABA, Argentina.

Capítulo 27

Enfermedades emergentes y reemergentes

Las enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes constituyen uno de los problemas de salud que más interés ha despertado en los diferentes países del mundo en los últimos años. Muchas de ellas se consideran catástrofes nacionales por las altas morbilidad y mortalidad y las pérdidas humanas y económicas que producen.

Además se convierten en serios problemas socioeconómicos porque involucran al turismo, la industria, las exportaciones de productos y significan una alta erogación de dinero para los Ministerios de Salud nacionales que procuran prevenirlas y controlarlas.

En los albores del siglo XXI, las enfermedades emergentes o reemergentes plantean un serio desafío para su control.

Las enfermedades emergentes son enfermedades infecciosas con incidencia en aumento en las últimas dos décadas. Se identifican con diversas etiologías: priónica, viral, bacteriana, micótica o parasitaria; en diferentes poblaciones de riesgo, con diferentes vías de transmisión, historia natural y eco-epidemiología. Como reemergentes, figuran aquellas afecciones infecciosas conocidas que reaparecen después de una disminución significativa de su incidencia.

Para controlar estos preocupantes fenómenos, se debe interpretar a estas dolencias infecciosas dentro de una ecología tanto global como local con carácter dinámico, pues están moduladas por cambios tecnológicos, sociales, económicos, ambientales y demográficos, a lo que se suma el potencial de cambio y capacidad de adaptación de los microorganismos.

El desafío requiere una estrategia integrada, que contemple el fortalecimiento de la vigilancia epidemiológica y del laboratorio, con alto nivel científico, así como la construcción de infraestructura internacional y local capaz de responder con soluciones adecuadas y oportunas. Es imprescindible el desarrollo de estrategias de prevención y control de las enfermedades emergentes, por medio de intervenciones eficaces basadas en investigaciones prácticas y realistas.

Las enfermedades infecciosas emergentes son aquellas recién descubiertas que causan serios problemas de salud local o internacional.

En los últimos 20 años se han descubierto más de 30 nuevos microorganismos pro-ductores de nuevas enfermedades o síndromes. Dentro de este grupo de enfermedades se incluyen la infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), agen¬te causal del SIDA; la Fiebre Hemorrágica producida por el virus Ébola; nuevas formas del Cólera; la Enfermedad de los Legionarios; la Enfermedad de Lyme; el Síndrome Pulmonar por Hantavirus; la Colitis Hemorrágica con Síndrome Urémico Hemolítico por Escherichia coli Enterohemorrágica; la nueva variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, asociada con la Encefalopatía Espongiforme Bovina (mal de la vaca loca); entre otras.

La emergencia podría deberse a:

1. la propagación de un nuevo agente, como sucedió con el VIH/SIDA, la Fiebre Hemorrágica producida por el Virus Ébola o el SARS (Síndrome Respiratorio Agudo Severo) producido por un Coronavirus.

2. reconocimiento de una infección que ha estado presente en la población pero cuya etiología ha sido recientemente establecida, como sucedió con Rotavirus agente causal de la diarrea infantil o el Parvovirus B19 como agente productor de la Quinta Enfermedad.

3. la determinación del origen infeccioso de una enfermedad establecida y conocida como la úlcera gástrica duodenal en cuya etiología está implicado el Helicobacter pylori o el Sarcoma de Kaposi en pacientes inmunocomprometidos cuyo agente es el Herpes Humano 8.

Como enfermedades reemergentes se consideran aquellas supuestamente controla-das, en franco descenso o prácticamente desaparecidas, que vuelven a constituir una amenaza sanitaria y que frecuentemente reaparecen en proporciones epidémicas. La tuberculosis ha sido un ejemplo de enfermedad reemergente, en parte debido a la asociación con la infección con el VIH a nivel mundial; el cólera en el continente ame-ricano, donde no se reportaba desde hacía más de 100 años; la peste en la India y Perú; el dengue. Además se deben considerar aquellas enfermedades prevenibles por vacunas como la difteria y la poliomielitis que afectan nuevamente a naciones que llevaban años sin ellas por descenso en las coberturas de inmunización, deficiencias técnicas, graves problemas económicos u otros de orden social.

Tabla 1. Enfermedades emergentes y reemergentes agrupadas según agente etiológico *

Virales	Bacterianas	Parasitarias	Micóticas
Arenavirosis **	Cólera	Blastocistosis	Aspergilosis
Dengue	Cólera (0139)	criptosporidiasis	Candidiasis
EEB/CJ ***	Difteria	Ciclosporiasis	Criptococosis
Fiebre amarilla	Enfermedad de Lyme	Isosporiasis	Feohifomicosis
Fiebre del valle del Rift	Enfermedades por resistencia antibiótica	Leishmaniasis	Hialohifomicosis
Fiebre Ébola	Fascitis necrotizante	Microsporidiasis	Histoplasmosis
Hantavirosis	Legionelosis	Paludismo resistente	Pneumocistosis
Hepatitis C	Peste	Pediculosis	Zigomicosis
Rotavirosis	Síndrome urémico hemolítico	Sarna	
Sida	Tuberculosis	Toxoplasmosis	

* Listado no exhaustivo. ** Virus Junín Guanarito Sabiá Machupo Lassa. *** Encefalopatía espongiforme bovina/Creutzfeld Jacob

El desafío de las enfermedades emergentes y reemergentes. Mercedes Weissenbacher, Roberto Salvatella , Hortal. 1997

Factores que intervienen en la emergencia de enfermedades infecciosas

En 1992, el Instituto de Medicina de la Academia Nacional Americana de Ciencias emi-tió un informe en el cual identificaba seis factores subyacentes en la emergencia de enfermedades infecciosas.

1. Cambios demográficos y de comportamiento humano.
2. Impacto de las nuevas tecnologías e industrias.
3. Desarrollo económico y cambios en la utilización de la tierra.
4. Aumento de los viajes y del comercio internacional.
5. Adaptación y cambios microbianos.
6. Interrupciones en las medidas de Salud Pública.

1. Cambios en la demografía y su conducta

Los movimientos poblacionales humanos originados por las migraciones de refugiados, guerras, y desastres naturales constituyen, con bastante frecuencia en estos tiempos, factores importantes en la emergencia de enfermedades. Los movimientos masivos de trabajadores del campo a las ciudades, motivados por las condiciones económicas conocido también como "urbanización rural", permiten que las infecciones que surgen en las áreas rurales aisladas puedan alcanzar poblaciones mayores.

Las infecciones introducidas pueden extenderse localmente a la población o más allá, a lo largo de carreteras, rutas de transportes interurbanos, ferrocarriles o por vía aérea. Como ejemplo pueden citarse el SIDA y el Dengue, este último vinculado con los depó-sitos de agua en contenedores y neumáticos en áreas periurbanas que se llenan con las lluvias, y elevan el índice de vectores (mosquitos Aedes aegypti).

La Tuberculosis es otra enfermedad que se extiende a medida que la alta densidad poblacional aumenta. Tal es el caso de los centros cerrados como prisiones, asilos de ancianos, unidades militares, y otros.

La conducta humana puede ejercer efectos importantes sobre la diseminación de la enfermedad y los ejemplos más elocuentes son las infecciones de transmisión sexual y las vías en que el comportamiento humano, el sexo y el uso de drogas por vía endo-venosa, han contribuido a la aparición y diseminación del VIH.

2. Cambios ecológicos

Los cambios ecológicos, incluidos aquellos producidos a causa del desarrollo agrícola o económico, se consideran los factores que con mayor frecuencia inciden en la emergencia de enfermedades. Tienen especial incidencia como factores en los brotes de enfermedades no reconocidas previamente, con elevados índices de mortalidad que a menudo se convierten en infecciones zoonóticas.

Los factores ecológicos generalmente precipitan la emergencia y ponen a las personas en contacto con un reservorio natural o con el hospedero de una infección hasta el momento poco conocida, pero ya presente, con frecuencia, ya sea por su proximidad o también por las condiciones cambiantes que favorecen a una elevada población del agente o de su huésped natural.

La aparición de la Enfermedad de Lyme en Estados Unidos y Europa se debió probablemente a la reforestación de los bosques que incrementó la población de venados y de su garrapata (vector de esta enfermedad) El movimiento de personas hacia estas áreas, puso a una población mayor en contacto con el vector, y dio lugar a un mayor número de casos.

3. Desarrollo agrícola

El desarrollo agrícola es uno de los factores de emergencia de enfermedades, pues es una de las vías más comunes que alteran o interfieren con el medio am-

biente.
El virus Junín, un Arenavirus productor de la Fiebre Hemorrágica Argentina, tiene una historia muy similar a la del virus Hantaan. La conversión de pastizales en campos de cultivos para el maíz favoreció a un ratón que era el hospedero natural del virus y los casos humanos comenzaron a aumentar en proporción con la expansión de la agricultura maicera. Las pandemias de gripe parecen tener un origen agrícola y lo vinculan con la cría de patos y cerdos en China. Las cepas que ocasionan epidemias anuales o bienales son por lo regular, el resultado de la mutación; sin embargo, los virus pandémicos de influenza no surgen por este proceso. En vez de ello, segmentos genéticos de dos cepas de influenza se asocian para producir un nuevo virus capaz de infectar a los humanos. Estudios realizados por algunos investigadores indican que aves acuáticas como los patos, constituyen grandes reservorios de Virus Influenza y que los cerdos pueden servir como "vasos mezcladores" para nuevas cepas de influenza en mamíferos.
El agua frecuentemente se asocia con la emergencia de enfermedades, como las infecciones transmitidas por mosquitos u otros artrópodos que incluyen algunas de las enfermedades más serias y diseminadas, son a menudo estimuladas por la expansión de las aguas estancadas, simplemente porque los mosquitos vectores se crían en un medio líquido.
Existen numerosas enfermedades transmitidas por vectores que se crían en el agua en su mayoría, e involucran a los embalses, el agua para riego o el agua potable depositada en las ciudades. Ejemplo de ello es el Virus Dengue, el virus del Valle de Rift, la fiebre por Virus del Nilo Occidental y otros.
Los humanos son agentes importantes de los cambios ecológicos y ambientales, pero también los desastres naturales, tales como las anomalías climáticas (lluvias abundantes que causan inundaciones, huracanes, y otros) pueden tener el mismo efecto. El brote de Síndrome Pulmonar por Hantavirus (SPH) en Estados Unidos en 1993, puede tomarse como ejemplo. Al parecer el virus había estado presente por largo tiempo en las pobla-ciones de ratones, pero un invierno y una primavera inusualmente moderados y húmedos en esa área, condujeron a que se elevara la población de estos roedores en la primavera y el verano. De esta forma se crearon mayores posibilidades para que las personas entraran en contacto con los roedores infectados con el virus. Se ha sugerido que la anomalía en el tiempo se debió a efectos climáticos en gran escala. Los mismos fenómenos climáticos pudieron ser los responsables de los brotes de Hantavirus en Europa.
4. Comercio y viajes internacionales
En el pasado, una infección entre las personas de un área geográfica aislada podía llevarse ocasionalmente a otro lugar a través de los viajes, el comercio o las guerras.
En los siglos XVI y XVII los barcos que llevaban esclavos de África Occidental hacia el nuevo mundo, trajeron la fiebre amarilla y su mosquito vector, Aedes aegypti. En el siglo XIX el cólera tuvo una oportunidad parecida para diseminarse desde las planicies del río Ganges en la India, hacia el Medio Oriente y desde allí hacia Europa y a otros países.
En este siglo XXI nos llegan noticias sobre la aparición de nuevas infecciones bacterianas y virales: tuberculosis extremadamente resistente, aparición de cepas de Klebsiella pneumoniae resistentes a los carbapenemes (producción de carbapenemasas), brotes de leptospirosis después de inundaciones, tos convulsa en personas adolescentes y adultos, un nuevo virus de la gripe H7N9 en China, que se ha cobrado ya varias muertes; una nueva cepa de coronavirus en Oriente Medio y Europa; casos de fiebres tropicales y dengue en el sur de Europa o brotes del virus del Nilo Occidental en mitad de los EE.UU., Síndrome Respiratorio Agudo y Severo (SARS), Ébola en África, gripe aviar H5N1, gripe porcina en México, gripe humana epidémica a partir de 2010.

Tecnología e industria
El desarrollo de la tecnología en la sociedad moderna y la globalización, han permitido que las industrias procesadoras de alimentos y de otros productos que utilizan elementos de origen biológico con sus nuevos métodos de producción, buscando una mayor eficiencia y una reducción en los costos hayan elevado las posibilidades para la contaminación accidental y ampliado los efectos de ésta.
Esto ha traído como consecuencia la posibilidad de introducir agentes microbiológicos contaminantes desde lugares lejanos. Un agente patógeno presente en materias primas, puede hallar una vía en una gran cantidad de productos terminados, como ha sucedido con la carne destinada a producir hamburguesas principalmente con E. coli O157 H7 que ocasiona el síndrome urémico hemolítico en Estados Unidos pero otros serotipos de Escherichia coli productores de verotoxinas han sido implicados en otros países.
La Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) que

surgió en Inglaterra en los últimos años, fue probablemente una transferencia interespecie de la encefalomielitis desmielinizante (encefalitis espongiforme) de las ovejas al ganado bovino, que se produjo al haber un cambio en el alimento del ganado y condujo a una activación incompleta del agente causal de la encefalomielitis desmielinizante en los subproductos ovinos suministrados como alimentos al ganado.
Los productos derivados de la sangre y de los tejidos han diseminado de forma inadvertida infecciones no reconocidas en su momento como el VIH y los virus B y C de hepatitis como ocurrió con los factores de coagulación para el tratamiento de la hemofilia.

6. Adaptación microbiana y cambio
Los microorganismos, como todo organismo viviente, están en constante evolución. La aparición de bacterias resistentes a los ATM; como resultado de la ubicuidad de los antimicrobianos en el ambiente, es una lección sobre la adaptación microbiana, así como una demostración del poder de la selección natural. La aparición de bacterias y parásitos resistentes a los ATM se ha hecho frecuente por el uso indiscriminado de los mismos en numerosas afecciones. Los agentes patógenos pueden adquirir nuevos genes de resistencia a los ATM de otras especies del medio ambiente, a menudo no patógenos, seleccionados por la presión de su uso.
Muchos virus muestran un elevado índice de mutación y pueden evolucionar rápida-mente y producir nuevas variantes. Un ejemplo clásico es la gripe, cuyas epidemias anuales son producidas por "desplazamiento antigénico" en una cepa que circulaba previamente. Un cambio en un sitio de una proteína de superficie a un sitio antigénico, generalmente la hemaglutinina permite que la nueva variante reinfecte a personas previamente infectadas, porque el antígeno alterado no es reconocido por el sistema inmune.

7. Fracaso de las medidas de Salud Pública
Las medidas de Salud Pública y saneamiento han servido para reducir la diseminación y exposición humana a numerosos agentes patógenos, a través de las vías tradiciona-les como el agua, alimentos, inmunizaciones y control de vectores. De esta forma la reducción en los niveles de cloro para tratar las aguas, trae por resultado el incremento de las toxiinfecciones alimentarias (TIA) y por supuesto entre ellas, el cólera.
De igual forma la falta de control en la elaboración de alimentos ha ocasionado la diseminación de la E. coli O157 H7 en hamburguesas, leche y jugo de manzana. La epidemia de dengue se ha originado cuando el índice de mosquito Aedes aegypti se ha elevado, por dificultades en los programas de control de vectores.
La tuberculosis es otra de las enfermedades que muestra una tendencia ascendente en los últimos años. La OMS ha estimado en 1990 la ocurrencia de 8 millones de nuevos casos y 45.000 muertes se producen en niños menores de 15 años. Esto en parte se debe a un incremento de la miseria en el mundo, deficiencia en los programas de control de la tuberculosis, aumento de la inmunodeficiencia por el incremento de la ancianidad, y de los casos de SIDA; por el aumento en el uso de drogas inmunosupresoras para combatir enfermedades malignas y a la resistencia a las drogas antituberculosas por las cepas de Mycobacterium tuberculosis.
Especial mención merece el progresivo aumento de la resistencia a las drogas antimicrobianas, consecuencia, en gran parte, de este mecanismo de variación. La fármacorresistencia antimicrobiana es una de las peores amenazas que plantean las enfermedades emergentes o reemergentes; en muchos casos son la causa de las mismas y se está convirtiendo en uno de los obstáculos principales para el control de las infecciones. Varias son las condiciones que propician la aparición de resistencia. Entre ellas la venta de ATM sin receta y la automedicación frecuente; el hacinamiento y las prácticas deficientes de control de infecciones en muchos hospitales; la escasa reglamentación del uso de ATM dentro y fuera de los hospitales; la escasa documentación de los resultados de los ensayos clínicos de los ATM más nuevos; la casi inexistente vigilancia o notificación o ambos de los patrones de resistencia a los antimicrobianos, datos esenciales para definir políticas de antimicrobianos y orientar los tratamientos empíricos. (World Health Organization, Network on Antimicrobial Resistance Monitoring. Weekly Epidemiol. Rec. 1996; 71: 185-7). Como ejemplos de estas situaciones podemos mencionar: neumonía causada por Streptococcus pneumoniae multirresistente, infecciones por enterococos resistentes a vancomicina, blenorragia causada por Neisseria gonorrhoeae resistente a penicilina, aparición de betalactamasas de expectro ampliado y extendido, aparición de carbapenemasas.
La estrategia de la OMS (Organización Mundial de la Salud) ante las enfermedades emergentes y reemergentes se centra en una vigilancia exhaustiva, junto

con un alto nivel técnico en los laboratorios, consistente con la estrategia promovida también por el Centro de Control de Enfermedades Infectocontagiosas (CDC) en Estados Unidos.
Las metas principales de la OMS, acordadas en Junio de 1995, son:

· fortalecer la vigilancia mundial de las enfermedades infecciosas
· construir infraestructuras internacionales para reconocer, comunicar y responder a la amenaza de enfermedades nuevas y renacientes
· crear un programa de investigación aplicada que dedique atención preferente a los problemas prácticos y a las soluciones realistas
· reforzar la prevención y el control de las enfermedades a través de intervenciones seleccionadas

Es crítico mejorar la comunicación y colaboración entre clínicos y microbiólogos, que son los primeros en reconocer las infecciones emergentes y a la vez con los profesionales de Salud Pública con experiencia en epidemiología. Lamentablemente tanto a nivel local como internacional hay déficit de personal capacitado y laboratorios con una buena infraestructura. Es importante tener en cuenta la adecuación de los laboratorios y la capacitación continua del personal, debido al papel esencial que ellos tienen en la difícil tarea de identificar microorganismos ya conocidos o no conocidos previamente.
El SIDA ha demostrado fehacientemente, que un solo enfoque o una sola disciplina no es suficiente para identificar y prevenir las enfermedades emergentes o reemergentes. Para ser efectivo, se deben integrar las áreas sociales, del comportamiento, ecología y otras, junto con la epidemiología, la clínica y el laboratorio, para aplicar el conocimiento totalizador en los programas de vigilancia y prevención.
Actualmente, sabemos que la emergencia de una nueva enfermedad infecciosa es el resultado de la interacción, generalmente compleja, de distintos elementos, entre los que se incluyen cambios climáticos, actividad humana y determinantes microbiológi-cas. Hay consenso en que no existe forma de predecir cuándo emergerá una nueva enfermedad infecciosa, pero también pueden reducirse sus riesgos mediante vigilancia sanitaria y una rápida identificación del peligro.

Enfermedades Producidas por Virus

Enfermedad	Agente
Fiebre Hemorrágica:	
Argentina	Virus Junín
Boliviana	Virus Machupo
Venezolana	Virus Guanarito
Brasil	Virus Sabia
Fiebre Lassa	Virus Lassa
Fiebre Ebola	Virus Ébola
SIDA	VIH
Hepatitis	Virus Hepatitis C (transmisión parenteral)
Hepatitis	Virus Hepatitis E (transmisión ano-boca)
Síndrome Pulmonar	Hantavirus
Diarrea Infantil	Rotavirus
Quinta Enfermedad	Parvovirus B19
Cáncer de Cuello	Virus Papiloma
Exantema Súbito	Herpes Humano 6
Síndrome Pulmonar por Hantavirus (Argentina)	Virus Andes
Linfoma-Leucemia a células T	Virus Linfotrópico de Células T Humano

Enfermedades Producidas por Bacterias

Enfermedad	Agente
Enfermedad de los Legionarios	Legionella pneumophila
Síndrome del Shock Tóxico (asociado a tampones)	Cepas de Staphylococcus
Colitis Hemorrágica - Síndrome Urémico Hemolítico	(asociado a la producción de toxinas)
Enfermedad de Lyme	Escherichia coli O157: H7
Cólera en Asia	Borrelia burgdorferi
Difteria	Vibrio cholerae O139
Tuberculosis multirresistente	Corynebacterium diphtheriae
Neumonía multirresistente	Mycobacterium tuberculosis
	Streptococcus pneumoniae

Clasificación
Se han clasificado las enfermedades emergentes y reemergentes de la siguiente manera:

GRUPO I (Enfermedades recientemente descubiertas):

· SIDA (VIH)
· Ébola y Marburg (filovirus homónimos)
· Fiebres hemorrágicas virales (argentina, boliviana, venezolana, etc.)
· Síndrome Pulmonar por Hantavirus (Estados Unidos, Argentina)
· Hepatitis C
· Hepatitis E

·Enfermedad de Lyme (espiroqueta Borrelia burgdorferi)
· Síndrome Urémico Hemolítico por E. coli O157 H7
· Cólera por V. cholerae 0139 en Asia

GRUPO II (Enfermedades preexistentes que resurgen o aparecen en nuevos contextos - Reemergentes):

· Cólera en las Américas desde 1992
· Paludismo, fiebre amarilla, dengue y chikungunya en países no tropicales
· Meningitis meningocócica
· Leishmaniasis y Chagas en áreas geográficas nuevas
· Difteria en Rusia y otros países por bajas coberturas

GRUPO III (Enfermedades conocidas cuyo tratamiento ya no es eficaz):

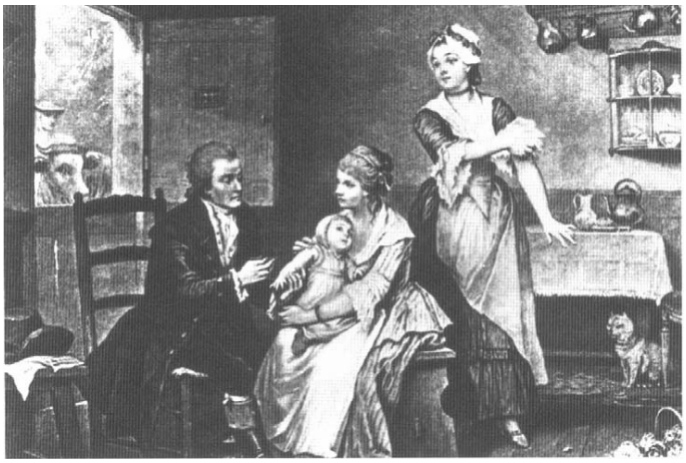
· Paludismo: Plasmodium spp. resistente a cloroquina
· Neumonía: Streptococcus pneumoniae multirresistente
· Infecciones por Enterococcus spp. resistentes a vancomicina
· Gonorrea: Neisseria gonorrhoeae resistente
· Tuberculosis: Mycobacterium tuberculosis multirresistente (XDR y MDR)
· Diarrea invasiva (disentería bacilar) Shigella spp. multirresistente.

Bibliografía

• LeDuc, J. 1996. WHO Strategy for Emergencing Infectious Diseases. JAMA 275: 318-320.
• OPS. Enfermedades Infecciosas Nuevas, Emergentes y Reemergentes. Bol. Epidemiol. 1995: 16 (3): 1-7.
• Murray, P., Baron, E. et al. 1999. Manual of Clinical Microbiology. ASM press. 7th. Edition. Washington DC, USA.
• Littvik, A y col. 2008. Tras las Huellas de un Mundo Invisible. Sima Editora 4ª Ed. Córdoba, República Argentina.
• Jawetz et al. Microbiología Médica. Editorial McGraw Hill. 25ª Ed. 2010.
• Forbes, B., Sahm, D. et al. 2009. Bailey & Scott. Diagnóstico Microbiológico. Ed. Panamericana. 12va. Edición. Buenos Aires, República Argentina.
• Evans, A. Kaslow, R. 1997. Viral Infections of Humans. Epidemiology and Control. Plenum Medical-Book Co. 3rd. edition. New York, USA.

Capítulo 28
Vacunas

"*Diferentes especies de materiales infecciosos, al ser absorbidos por el organismo, pueden producir efectos en cierto modo similares pero la singularidad del virus cowpox es que la persona que ha sido afectada por él está libre para siempre de la infección de viruela: ni la exposición a las emanaciones variólicas, ni la introducción de la sustancia mórbida en la piel, le producirán este mal...*"



El desafío de la epidemiología, Problemas y lecturas seleccionadas Organización Panamericana de Salud, 1988.

Hace más de 200 años, antes de que se sospechara la existencia de los microorganismos y del sistema inmune ya se había logrado la primera victoria sobre una de las enfermedades que azotaban a la humanidad cobrándose el 40% de las vidas de aquellos que la padecían. Estamos haciendo referencia al aporte de Edward Jenner, quien en 1796 descubre las propiedades de la vacuna como medida preventiva al utilizar la variolización a partir de una enfermedad pustulosa de los vacunos.
La historia continúa luego con Pasteur, quien en 1885 introduce con éxito la vacuna antirrábica, preparada con un virus rábico fijo y atenuado mediante el pasaje seriado en animales de experimentación.
En 1884 Koch descubre el agente etiológico del cólera y en 1892 se ensayan en el hombre las primeras vacunas a gérmenes vivos contra dicha enfermedad.
A mediados del siglo XX se produce un gran avance al implementarse las técnicas de cultivo de tejidos. En 1949 se logra cultivar el Virus Polio, obteniéndose en 1954 la vacuna inactivada Salk y en 1957 la Sabin. En la década del '60 se logran producir las vacunas contra sarampión, rubéola y parotiditis.
No obstante, se requirieron casi dos siglos desde el descubrimiento de Jenner para que en octubre de 1977 se considerara erradicada del mundo la viruela, para lo cual no fue suficiente tener una vacuna útil, sino que esto se logró gracias a un esfuerzo internacional de gran magnitud dirigido por la Organización Mundial de la Salud (OMS).
Está demostrado, por estudios que relacionan costo/efectividad, que la prevención representa el medio más útil, simple e inocuo dentro de todo el arsenal médico; sin embargo, aún estamos lejos de poder controlar todas las enfermedades infecciosas por medio de vacunas.
La prevención de las enfermedades infecciosas por medio de vacunas se logra mediante la administración de un antígeno que permite el desarrollo de una respuesta inmunológica activa, habitualmente antes de la exposición natural al agente infeccioso.

¿Qué son las vacunas?
Son compuestos constituidos por microorganismos vivos atenuados, microorganismos completos muertos, fracciones subcelulares o antígenos producidos de forma artificial por clonación genética o síntesis química, capaces de estimular el sistema inmune de un individuo e interactuar con los productos de dicha respuesta, mimetizando la enfermedad natural y previniendo el desarrollo de la misma.

¿Cuál es el principio de la vacunación?
Es inducir una respuesta inmune frente al antígeno dado, para que cuando se tenga el primer contacto (real) con el agente infeccioso se genere una respuesta inmunitaria rápida y eficaz que evite o controle la enfermedad.

¿Cuál es el objetivo de la vacunación?
Lograr individuos inmunes a una infección determinada y bloquear la transmisión de la misma en la comunidad al disminuir la circulación del agente.
Inmunoprofilaxis
La utilización de la respuesta inmune dirigida para evitar una infección es lo que denominamos inmunoprofilaxis (prevención a través de la repuesta inmune).

Inmunización activa: es aquella en la cual el hospe-

dero produce sus propios anticuer-pos o inmunoglobulinas mediante la activación de los linfocitos T y B. Esta producción se desencadena en forma natural al tener un contacto real con el agente, o artificial mediante la administración de una vacuna específica.

Conviene resaltar que para lograr una buena respuesta inmune es necesario completar los esquemas de vacunación, que generalmente incluyen refuerzos para mantener el grado de inmunización alcanzado.

Inmunización pasiva: es aquella en la cual el hospedero recibe los anticuerpos o inmunoglobulinas previamente producidos en un individuo inmunocompetente. Estos anticuerpos puede recibirlos en forma natural, a partir de la madre por vía transplacentaria o mediante la lactancia; o artificial por administración de sueros que contienen anticuerpos específicos para determinado agente o gammaglobulinas hiperinmunes para varios agentes infecciosos.

Estos anticuerpos exógenos son metabolizados al cabo de 20-25 días, por lo tanto la inmunidad conferida por ellos se pierde al cabo de ese período.

Tipos de vacunas y métodos de obtención

Las vacunas tradicionales

1-Microorganismos vivos (atenuados)
2-Microorganismos muertos (inactivados)
3- Productos modificados del microorganismo.

1-Microorganismos vivos-atenuados: En éstas la virulencia de los microorganismos ha sido reducida en forma artificial.

Las ventajas de estas vacunas son: -remedan la infección natural ofreciendo no sólo la multiplicación del agente sino una mayor variación antigénica permitiendo una importante producción de anticuerpos neutralizantes, -la administración se realiza con inóculos pequeños y generalmente únicos lo que hace que la multiplicación del agente infeccioso en el organismo sea limitada y no alcance a los órganos más importantes, -puede administrarse por vía natural ejemplo: oral, -son capaces de inducir inmunidad local y sistémica, -la respuesta inmune es importante y duradera. La mayoría de las vacunas virales de uso corriente pertenecen a esta categoría. Sin embargo, poseen algunas desventajas: -existe la posibilidad de reversión al tipo salvaje (se entiende por tipo salvaje al agente en su estado natural, con su capacidad virulenta intacta), como sucede con la vacuna para Virus Polio Sabin (oral) que una vez administrada, el virus realizará varias fases de multiplicación en el organismo de modo que se incrementará la posibilidad de que ocurra la reversión en el hospedero, si bien esta posibilidad era remota y no afectaría al individuo sólidamente inmunizado, ocurrieron brotes aislados; -atenuación insuficiente que puede ser nociva para el organismo pudiendo llevar a producir efectos indeseables; -son sensibles a los cambios de temperatura por lo que requiere para su conservación respetar la cadena de frío. Es por todo esto que se requiere un control de calidad riguroso. Constituyen ejemplos de estos tipos de vacunas: bacterianas: BCG; virales: Sabin, sarampión, rubéola, parotiditis y fiebre amarilla.

2-Microorganismos muertos-inactivados: En estas vacunas los agentes perdieron la capacidad de multiplicación. Se administran solamente por vía intramuscular. Tienen la ventaja de la ausencia de infecciosidad y por lo tanto de relativa seguridad. Mientras que las desventajas incluyen: son menos inmunogénicas, con la necesidad consiguiente de administrar varias dosis y refuerzos, -desencadenan únicamente inmunidad sistémica, -no generan inmunidad local por no ser administrada por vías naturales en contacto con mucosas, -al requerir mayor cantidad de proteínas virales su elaboración es más costosa.

Existen varios métodos de inactivación: calor, luz ultravioleta y productos químicos (for-maldehído, acetona y fenol). Como ejemplos podemos citar: la

vacuna de la rabia, antigripal, Salk antipoliomielitis, antihepatitis A; antipertussis (bacteriana).

3-Productos modificados del microorganismo: Pueden ser elaboradas a partir de diferentes productos.

3a-Toxoides: son toxinas bacterianas modificadas para eliminar sus propiedades patógenas pero que retienen la capacidad de estimular la formación de anticuerpos protectores específicos. Dos de estos toxoides (tétanos y difteria) se encuentran entre las vacunas más útiles y ampliamente utilizadas. Estas dos combinadas con Bordetella pertussis muerta, constituyen la conocida vacuna triple: DPT (difteria, tos convulsa, tétanos). Existen pruebas de que la omisión del componente de la tos convulsa reduce la respuesta de anticuerpos a los dos toxoides; de este modo, el microorganismo de la tos convulsa actúa como adyuvante y como vacuna específica. (Adyuvante, del latín adyuvans, ayuda; sustancia que se mezcla con el antígeno para aumentar la velocidad y cantidad de anticuerpos producidos).

3b-Vacunas a subunidad: son elaboradas a partir de componentes bacterianos o virales capaces de provocar una respuesta inmune eficaz. En el caso de las vacunas anti meningocócicas y antineumocócicas se utilizan polisacáridos capsulares, mientras que en la vacuna antihepatitis B se emplea antígeno de superficie el cual se obtenía a partir del suero de pacientes portadores crónicos del virus; ahora se obtiene a partir de levaduras en las que previamente se inserta el gen para la producción del antígeno.
Otro ejemplo es la actual vacuna acelular anti Bordetella pertussis, compuesta por fragmentos proteicos de la bacteria que inducen una respuesta inmunológica. La vacuna puede contener toxina pertussis (TP), pertactina (PER), hemaglutinina filamentosa (HAF) y fimbrias 2 y 3, purificados e inactivados.
En general las vacunas acelulares son 5 a 10% menos eficaces que las vacunas de células enteras pero son mejor toleradas por esto es que se prefieren debido a que tienen menos efectos secundarios.

3c- Vacunas conjugadas: en estas vacunas los componentes inmunogénicos deben ser asociados a proteínas. La necesidad de asociarlos es que por sí solos tienen baja inmunicidad. Estas proteínas a las cuales se asocian van a actuar como haptenos des-encadenando una respuesta de células T helper intensa con buena producción de anticuerpos. Ejemplos: anti Haemophilus influenzae serotipo b (Hib).

.Vacunas obtenidas por nuevas tecnologías

A-Péptidos sintéticos
Cuando una proteína se identifica como antigénicamente importante, el gen que codifica esta proteína puede insertarse en un hospedero adecuado (bacteria, hongo, etc.), al cual se lo hace crecer en cultivos, dando origen así a la producción de suficiente can-tidad de proteína inmunogénica, la que puede ser utilizada luego como una vacuna de subunidad. Otra alternativa es la síntesis química de regiones inmunogénicas de la proteína (vacunas sintéticas) basada en la secuencia del ADN. Las ventajas ofrecidas por estos péptidos sintéticos son la alta pureza y la seguridad.

B-Técnicas de ADN recombinante
-Expresión de polipéptidos: muchos genes virales pueden clonarse y expresarse en células procariotas, eucariotas (hongos) y células mamarias. Estos incluyen a la glicoproteína del virus de la rabia, antígeno de superficie de la hepatitis B, a la hemaglutinina A del Virus Influenza y a la glicoproteína D del Herpes Simplex. A excepción de la hepatitis B, en el resto, la respuesta inmunitaria en general fue bastante baja.
-Inserción de genes: ciertos genes aislados pueden insertarse en virus o bacterias que actúan como vectores o transportadores, de manera que da como resultado un híbrido o recombinante vivo, que una vez inoculado tiene la capacidad de inducir tanto inmunidad celular como humoral. La vacuna para hepatitis B, de uso en la actualidad, ha sido preparada mediante esta tecnología.

C-Atenuación específica del patógeno: puede lograrse mediante técnicas de manipulación genética, en las que se retira el gen responsable de la virulencia permitiendo la presencia de otros inmunogénicos.

D-Técnicas de anti-idiotipo: se basan en la fabricación de “anticuerpos sustitutos”, con idéntica configuración a un antígeno determinado pero sin su virulencia, llamados anti-anticuerpos.

Requisitos de una buena vacuna

· Una vacuna debe ser eficaz: no sólo debe inducir una respuesta inmunológica adecuada, sino también del tipo correcto y en relación con la fisiopatogenia de la enfermedad que se desea prevenir (cómo y dónde efectúa el daño el patógeno en cuestión, qué defensas contrapone el huésped, desarrollo de inmunidad en el hospedero y duración).

· La respuesta que induce debe ser duradera: las vacunas a microorganismos vivos inducen una inmunidad más fuerte y duradera que las preparadas a microorganismos muertos.

· Debe ser inocua: la seguridad es fundamental, y se evalúa en las fases iniciales del desarrollo de la vacuna: no debe producir daño alguno en el hospedero que la recibe.

· La estabilidad es un requisito para todos los compuestos destinados a ser alma-cenados largos períodos, especialmente las vacunas elaboradas con microorganis-mos vivos. Mantener la "cadena de frío" entre la fábrica y el vacunatorio no es fácil, pero es condición fundamental para que conserve su potencia original.

Se denominan vacunas monovalentes a las que inmunizan para un solo agente; por el contrario, las vacunas polivalentes inmunizan para más de un microorganismo (por ejemplo, MMR contra sarampión, parotiditis y rubéola) o distintos serotipos de un mismo microorganismo (vacuna antineumocócica con 23 serotipos).

¿Qué significa "cadena de frío"?
Cuando hacemos mención de este término nos referimos a las etapas que comprenden los procesos de conservación, manejo y distribución de las vacunas. La conservación de las vacunas es de fundamental importancia para lograr efectividad en la inmu¬nización, ya que la potencia de las mismas depende del mantenimiento en el rango de temperatura recomendado, desde su elaboración hasta su uso.
Múltiples factores intervienen en la desnaturalización de las vacunas pero sobre todo la termosensibilidad y la modificación de la temperatura de conservación son los que plantean el problema más difícil de resolver.
Cada vacuna presenta características diferentes que deben conocerse y respetarse.
En este aspecto el control de calidad de todo el proceso deberá ser sumamente estricto para garantizar los objetivos de la vacunación.

¿Cuándo deben aplicarse las vacunas?

(1) BCG: (A) Antes de egresar de la maternidad
(2) Hepatitis B: (B) En las primeras 12 horas de vida El Recién Nacido Prematuro con peso menor a 2000 g. debe recibir la dosis neonatal (dentro de las 12 hs. de vida) y 3 dosis más: a los 2, 4 y 6 meses. (C) Si no recibió el esquema en la infancia, se aplicará 1ra. dosis, 2da. dosis al mes de la primera y la 3ra. dosis a los 6 meses de la primera.
(3) Anti Neumococo
(4) Quíntuple Pentavalente DPT-HB-Hib (Difteria, tétanos, Tos convulsa, Hepatitis B, Haemophilus influenzae b).
(5) Rotavirus: (D) la primera dosis debe administrarse antes de las 14 semanas y 6 días o 3 meses y medio. (E) la última dosis debe administrarse antes de las 24 semanas o 6 meses de vida.
(6) Cuádruple (DTP-Hib) o Quíntuple: se debe colocar la que se disponga.
(7) Sabin oral (anti poliomielítica).
(8) Triple viral (anti Sarampión, anti Rubéola y anti Parotiditis): (F) Si no recibió previamente dos dosis de triple viral o bien 1 dosis de triple viral + 1 dosis de doble viral. Embarazadas: aplicar vacuna dT a partir del 2° trimestre de embarazo; 1°, 2° dosis o refuerzo según corresponda y luego cada 10 años.
(9) Gripe: (G) deberán recibir en la primovacunación dos dosis de vacuna separadas al menos por 4 semanas. (H): en cualquier trimestre de la gestación (I): puérperas hasta el egreso de la maternidad si no fueron vacunadas durante el embarazo
(10) Hepatitis A
(11) Triple bacteriana celular DTP
(12) Triple bacteriana acelular dTPa (J): personal de salud que atiende niños menores de 1 año (L) a partir de la 20º semana de gestación
(13) Doble bacteriana dT (K): a los 10 años de la última vacunación antitetánica.
(14) Virus Papiloma VPH
(15) Doble viral SR
(16) Fiebre Amarilla FA: (M): residentes en zonas de riesgo. (N): Residentes en zonas de riesgo. Único refuerzo a los 10 años de la primera dosis.

(17) Fiebre Hemorrágica Argentina FHA: (Ñ): Residentes o trabajadores con riesgo ocupacional en zonas de riesgo.

No se deben olvidar los casos especiales: inmunodeprimidos y ancianos (sistema inmune debilitado); viajeros y agentes de salud (riesgo particular de exposición) a quienes deberá protegerse contra determinados patógenos.

CALENDARIO NACIONAL DE VACUNACION

El Estado Nacional garantiza VACUNAS GRATUITAS en centros de salud y hospitales públicos de todo el país

Edad \ Vacunas	BCG (1)	Hepatitis B HB (2)	Neumococo Conjugada (3)	Quíntuple Pentavalente DTP-HB-Hib (4)	Rotavirus (5)	Cuádruple o Quíntuple Pentavalente (6)	Polio (7)	Triple Viral SRP (8)	Gripe (9)	Hepatitis A HA (10)	Triple Bacteriana Celular DTP (11)	Triple Bacteriana Acelular dTpa (12)	Doble Bacteriana dT (13)	Virus Papiloma Humano VPH (14)	Doble Viral SR (15)	Fiebre Amarilla FA (16)	Fiebre Hemorrágica Argentina FHA (17)
Recién nacido	única dosis (A)	dosis neonatal (B)															
2 meses			1° dosis	1° dosis	1° dosis (D)		1° dosis										
4 meses			2° dosis	2° dosis	2° dosis (E)		2° dosis										
6 meses				3° dosis			3° dosis		dosis anual (G)								
12 meses			refuerzo					1° dosis		única dosis							
15 meses																	
15-18 meses						1° refuerzo	4° dosis										
18 meses																1° dosis (M)	
24 meses																	
5-6 años (ingreso escolar)							refuerzo	2° dosis			2° refuerzo						
11 años		iniciar o completar esquema (C)						iniciar o completar esquema (F)				refuerzo		sólo para niñas		refuerzo (N)	
A partir de los 15 años																	única dosis (Ñ)
Adultos		iniciar o completar esquema (C)											refuerzo (K)		iniciar o completar esquema (F)		
Embarazadas									dosis anual (H)			refuerzo (L)					
Puerperio									dosis anual (I)						iniciar o completar esquema (F)		
Personal de salud		iniciar o completar esquema (C)							dosis anual			única dosis (J)			iniciar o completar esquema (F)		

(A) Antes de egresar de la maternidad.
(B) En los primeros 12 horas de vida.
(C) Si no hubiera recibido el esquema completo deberá completarlo. En caso de tener que iniciarlo: aplicar 1°dosis, 2°dosis al mes de la primera y 3°dosis a los 6 meses de la primera.
(D) La primera dosis debe administrarse antes de las 14 semanas y 6 días o tres meses y medio.
(E) La última dosis debe administrarse antes de las 24 semanas o los 6 meses de vida.
(F) Si no hubiera recibido dos dosis de Triple Viral o una de Triple Viral más una dosis de Doble Viral.
(G) Deberán recibir en la primovacunación 2 dosis de vacuna separadas al menos por cuatro semanas.
(H) En cualquier trimestre de la gestación.
(I) Puérperas hasta el egreso de la maternidad, que no se vacunaron durante el embarazo.
(J) Personal de salud que atiende niños menores a 1 año.
(K) A los 10 años de la última vacunación antitetánica.
(L) A partir de la semana 20 de gestación.
(M) Residentes en zonas de riesgo.
(N) Residentes en zonas de riesgo. Único refuerzo a los 10 años de la 1° dosis.
(Ñ) Residentes o trabajadores con riesgo ocupacional en zonas de riesgo.

(1) BCG: Tuberculosis (formas invasivas)
(2) HB: Hepatitis B
(3) Previene la Meningitis, Neumonía y Sepsis por Neumococo.
(4) DTP-HB-Hib: (Quintuple/Pentavalente) Difteria, Tétanos, Tos Convulsa, Hep B, Haemophilus Influenzae b.
(5) ROTAVIRUS
(6) Cuádruple DTO-Hib: Difteria, Tétanos, Tos Convulsa, Haemophilus influenzae b. Quintuple/Pentavalente: Difteria, Tétanos, Tos Convulsa, Hep B, Haemophilus Influenzae b. Aplicar la que este disponible.
(7) Vacuna contra la Poliomielitis.
(8) SRP: (Triple viral) Sarampión, Rubeóla, Paperas.
(9) GRIPE
(10) HA: Hepatitis A
(11) DTP: (Triple Bacteriana Acelular) Difteria, Tétanos, Tos Convulsa.
(12) dTpa: (Triple Bacteriana Acelular) Difteria, Tétanos, Tos Convulsa.
(13) dT (Doble Bacteriana) Difteria, Tétanos.
(14) VPH: Virus Papiloma Humano, causante del 100% de los casos de cáncer de cuello de útero.
(15) SR: (Doble Viral) Sarampión, Rubeóla.
(16) FA: (Fiebre Amarilla)
(17) FHA: (Fiebre hemorrágica argentina)

Para más información:
0-800-222-1002 www.msal.gov.ar

DiNaCEI Dirección Nacional de Control de Enfermedades Inmunoprevenibles

Ministerio de Salud Presidencia de la Nación

Vacunas incluidas en el calendario oficial

BCG

Es una vacuna preparada a partir de Mycobacterium bovis que por técnicas de atenuación y subcultivos se llega a la producción del bacilo de Calmette-Guèrin (BCG). La vacuna debe administrarse temprano, antes de tener el primer contacto con la bacteria. En las poblaciones donde el riesgo familiar es bajo, por baja incidencia, el momento ideal para la primera dosis es al mes de vida. En nuestro medio donde la incidencia de Tuberculosis es alta la vacuna debe ser administrada antes del alta de la maternidad.

Vacuna antipoliomielitis

Existen dos tipos de vacunas: Sabin: oral, a virus vivos atenuados a través del cultivo en células de riñón de mono, contiene Virus Polio 1, 2 y 3. Salk: parenteral, a virus muerto, incluye los tres tipos.

La aplicación de la Sabin confiere inmunidad humoral sérica y también protección de la mucosa intestinal, simulando una infección natural. Esto provoca la excreción viral por via digestiva, lo que hace que las personas no inmunizadas en contacto con los vacunados resulten protegidas.

En los últimos años debido a la ausencia de circulación de Virus Polio salvaje, algunos organismos recomendaron rotar las vacunas orales por la parenteral. El objetivo de esto es evitar los casos de parálisis asociados a la vacuna atenuada.

Vacuna triple bacteriana (antidiftérica, antitetánica, anticoqueluchosa) (DPT)

Constituida por toxoide diftérico, toxoide tetánico y una suspensión de Bordetella pertussis inactivada con formalina. Se debe administrar por vía intramuscular en el deltoides, a los 2, 4, 6 y 18 meses de vida con un refuerzo a los 6 años (ingreso escolar). Luego, un

refuerzo cada 10 años con la dT (doble bacteriana).

Vacuna contra Haemophilus influenzae serotipo tipo b (Hib)

Las primeras vacunas fueron elaboradas solamente con el polisacárido capsular purificado. El inconveniente que presentaban era que no protegían adecuadamente a los menores de 2 años (los más susceptibles). Las vacunas actuales utilizan este polisa-cárido (PRP) de la cápsula del bacilo conjugado con una proteína transportadora denominada "carrier" (toxoide tetánico; toxoide diftérico; mutante del toxoide diftérico o proteína de la membrana externa de Neisseria meningitidis).

Es sabido que el uso masivo de esta vacuna disminuye significativamente la incidencia de enfermedades invasivas por Hib, como meningitis y neumonía. Por otra parte, se sabe que por estimulación de la IgA secretora, los vacunados no colonizan posterior-mente este microorganismo en su tracto respiratorio. Este efecto, además de la espectacular disminución de la incidencia en los países que la adoptaron como vacuna oficial, fueron factores determinantes para su incorporación en la Argentina.

Fuera del esquema de vacunación habitual que incluye a los menores de 5 años (ver Calendario Argentino), se recomienda vacunar a los niños mayores de 5 años y adultos con enfermedades inmunosupresoras: HIV (sintomáticos o asintomáticos); asplénicos; deficiencias de IgG2; transplantados de médula ósea; cáncer. En los asplénicos quirúrgicos o funcionales, puede darse infección grave por Hib (además de otras), por la menor depuración de bacterias capsuladas que llegan al torrente sanguíneo; por lo tanto constituye una indicación precisa (Academia Americana de Pediatría).

Vacuna Triple viral (SRP o MMR)

Es una suspensión liofilizada de una combinación de cepas de virus vivos atenuados de Sarampión, Parotiditis y Rubéola. Los tres componentes generan una inmunogenicidad y una eficacia mayor al 90-95%, con una duración de la misma mayor a los 10 años. Todos los niños se vacunarán desde los 12 meses de vida, ver esquema calendario.

Vacuna antihepatitis B

Es una vacuna recombinante obtenida por ingeniería genética. Tiene una eficacia del 90-95% para prevenir la infección en niños y adultos susceptibles. Se requieren 3 dosis de vacuna para inducir una respuesta de anticuerpos protectores adecuados. La pri-mera dosis debe ser aplicada antes de las 12 primeras horas de vida y si no se com-pletaron las tres dosis a los 11 años o nunca recibió dosis alguna, se inicia el plan de vacunación con una primera dosis, la segunda al mes de la primera y la tercera a los seis meses de la primera.

Las personas mayores de 40 años, los inmunocomprometidos, los pacientes con insu-ficiencia renal crónica y los fumadores tienen menor tasa de seroconversión. Existen un 10% de adultos que no seroconvierten luego de un esquema completo, por lo cual requieren otra serie completa. Siempre medir seroconversión para asegurarse.

La duración de la inmunidad es variable, según distintos estudios luego de 10 años entre el 13 y 60% de los adultos vacunados pierden los Anticuerpos.

Vacuna antihepatitis A

En nuestro medio hay dos vacunas disponibles, una inactivada (HAVRIX) cuya cepa viral crece en cultivo celular. La otra vacuna (VIROHEP A), es una vacuna virosómica constituida por virus ensamblados en una estructura lipoproteica derivada del Virus Influenza.

La decisión de la utilización de la vacuna VHA en una población depende de las prioridades de ese país, del costo-beneficio, de la percepción de la severidad del problema y de su importancia.

En nuestro país las condiciones socioeconómicas permiten diferenciar tres patrones epidemiológicos de transmisión que determinan: a) poblaciones con riesgo de adquisición temprana de la infección, b) población con probabilidad menor y más tardía, c) poblaciones de riesgo intermedio. De acuerdo a esta situación epidemiológica van a variar las estrategias de vacunación.

a) Población con alto riesgo de infección por VHA

Estos grupos están constituidos por poblaciones de regular o bajo nivel socioeconómi-co, con dificultades para el acceso a una adecuada eliminación de excretas o agua potable. La mayoría de la población se infecta antes de los 10 años de edad, siendo el VHA la causa más frecuente de hepatitis aguda en la población pediátrica. La mayor parte de los niños menores de 5 años no presentan evidencias clínicas de infección, pero transmiten el VHA a sus contactos en la casa y en la comunidad. En estos grupos no se registran brotes epidémicos de envergadura pero hay una endemia

elevada y sostenida.
La estrategia a usar sería una inmunización masiva a edad temprana pero la misma no está aún recomendada a nivel mundial ya que se considera mucho más eficaz mejorar las condiciones sanitarias, de abastecimiento de agua y eliminación de excretas.
b) Población con bajo riesgo de adquisición de VHA
El riesgo de infección es bajo y la mayor parte de las infecciones ocurren en niños mayores y adultos. En este grupo se registran pocos brotes epidémicos ya que la posibilidad de controlar la vía de transmisión de la enfermedad es adecuada.
En estos casos, la indicación de la vacuna se realiza a partir del año de edad, en forma personalizada por indicación del pediatra en su consultorio.
c) Población con riesgo intermedio
Hay otros grupos con riesgo intermedio en los cuales coexisten niños de buen y regular medio socioeconómico, con lo cual ese riesgo es mayor y hay posibilidad de brotes de envergadura. La vacuna antihepatitis A sería útil para cortar brotes epidémicos en este tipo de comunidades.
Hay grupos que son de especial riesgo y que deben vacunarse: los pacientes inmunocomprometidos, pacientes con SIDA y con hepatopatías crónicas.
La vacuna anti-Hepatitis A se administra por vía intramuscular (región deltoidea) en una sola dosis al cumplir los niños un año de edad, momento en el cual pierden la protección de los anticuerpos maternos. La aplicación coincidirá con la de la Vacuna Triple Viral (sarampión, rubéola, parotiditis), significando una sustancial mejora en la logística nacional de suministro de vacunas.

Vacuna antigripal
Existen dos opciones para reducir el impacto del Virus Influenza: la inmunoprofilaxis con vacuna inactivada y la quimioprofilaxis o terapéutica con drogas antivirales específicas para influenza (amantadina o rimantadina).
Vacuna inactivada
Existen dos tipos de vacunas; las primeras utilizadas fueron las de virus enteros. Estas vacunas son elaboradas con virus relacionados antigénicamente con las cepas que circulan corrientemente, tanto de Virus Influenza tipo A como tipo B.
El otro tipo de vacunas lo constituyen las elaboradas con subunidades denominadas split o virus partido, que resultan del tratamiento de las preparaciones de virus enteros con solventes orgánicos o detergentes, los cuales rompen los contenidos lipídicos de la envoltura viral y solubilizan las superficies de las glicoproteínas. Todas contienen antígenos trivalentes, representativos de una cepa de influenza B y dos de influenza A.
La mayoría de los niños y adultos jóvenes desarrollan altos títulos de anticuerpos de inhibición de hemaglutininas postvacunación, siendo éstos protectores de la enfermedad causada por cepas similares a las contenidas en las vacunas o con las variantes relacionadas que pueden emerger durante los períodos de brotes epidémicos. Dentro de los 7 días posteriores a la administración de las vacunas con virus inactivos de influenza se produce un incremento en la circulación de anticuerpos virales. La duración de la respuesta inmune a la vacunación se mide a través de la persistencia de anticuerpos, que no sólo reflejan la estimulación mediante la vacuna, sino también la producida por la infección. Aproximadamente el 90% de los adultos jóvenes y de edad media tienen anticuerpos detectables durante 12 a 15 meses.

Eficacia
En adultos sanos, las vacunas reducen la incidencia de enfermedad clínica, con una efectividad del 80 al 90%. La eficacia en niños es similar y la protección ha demostrado ser más prolongada.
En pacientes añosos, estas vacunas son altamente eficaces y logran reducir la enfer-medad severa, la hospitalización, los casos de neumonía y la morbimortalidad.

Recomendaciones para el uso de la vacuna antigripal
Los grupos de alto riesgo son:

· Personas mayores de 65 años.
· Niños y adultos con enfermedades cardíacas y pulmonares crónicas, aquí se incluyen las cardiopatías congénitas y los pacientes con asma grave.
· Niños y adultos que residen en centros de cuidados crónicos (geriátricos, instituciones cerradas, etc.).
· Niños y adultos que requirieron seguimiento médico u hospitalización durante el año precedente a causa de enfermedades metabólicas (incluyendo diabetes mellitus), insuficiencia renal crónica o síndrome nefrótico, transplante de órganos sólidos, hemoglobinopatías o inmunosupresión (de base o la adquirida por medicación).

· niños y adolescentes (6 meses a 18 años) quienes reciben terapia con aspirina en forma prolongada por enfermedad de base y, por lo tanto, tienen mayor riesgo de síndrome de Reye luego de la infección por influenza.
· Grupos que pueden transmitir influenza a personas de alto riesgo
· Personal que convive con pacientes de alto riesgo.
· Médicos, enfermeras y otro personal de los hospitales que atienden pacientes de alto riesgo.

Personas que no deben ser vacunadas
No debe ser administrada la vacuna antigripal a personas con alergia conocida de hipersensibilidad anafiláctica al huevo u otros componentes de las vacunas.
Vacuna antineumocócica
Está compuesta de antígenos de polisacáridos obtenidos de la cápsula de Streptococcus pneumoniae de 23 serotipos.

Indicaciones
La vacuna polisacárida antineumocócica no está indicada en niños menores de 2 años por no ser inmunogénica en este grupo etario. Ello está en relación con la inmadurez del sistema inmunogénico para desarrollar una respuesta inmune con anticuerpos específicos de tipo IgG, independientemente de la participación del timo (T-independientes), que es la característica de las vacunas de polisacáridos.
Vacuna antineumocócica: indicaciones

· Niños mayores de 2 años con riesgo de infección invasiva
· Asplenia funcional o quirúrgica
· Síndrome nefrótico
· Insuficiencia renal crónica
· Anemia de células falciformes
· Fistulas de LCR
· Situaciones de inmunosupresión
· Linfomas
· Terapia inmunosupresora
· Transplante de órgano
· Infección por VIH
· Otras inmunodeficiencias

Vacuna anti Virus Papiloma
A partir del año 2011 la vacuna se incorpora al Calendario Nacional de Vacunación de manera gratuita y obligatoria para todas las niñas de 11 años.
Está destinada a prevenir la infección por Virus de Papiloma Humano (HPV) de los tipos específicos 16 y 18, los cuales causan el 70% de los casos de cáncer de cuello de útero, adenocarcinoma in situ, neoplasia intraepitelial cervical de grados 2 y 3, y cánceres vulvares y vaginales relacionados con el HPV. También son causantes de entre el 35 y el 50% de los casos de CIN 1, VIN 1 y VaIN 1, y del 90% de los eventos de verrugas genitales y papilomatosis respiratoria recurrente.
Está preparada a partir de partículas similares al virus (VLPs) altamente purificadas de la proteína L1 de la cápside mayor, de los tipos 16 y 18 del VPH. No contienen ADN viral, por lo tanto no son infectantes, aunque generan inmunidad.
La vacuna aprobada se obtiene por tecnología recombinante.
Debe tenerse en cuenta que el uso de la vacuna no reemplaza los controles médicos habituales y no es terapéutica, por lo que no brinda protección a las mujeres que ya se encuentran infectadas con el HPV. Las mujeres vacunadas deben continuar con los controles ginecológicos y con los screening de cáncer cervical ya que la vacuna no cubre todos los tipos de HPV.
Será administrada en 2 dosis, la 2° será administrada 6 meses después de la primera.
La vacuna contra el VPH permite inmunizar a las niñas contra dos tipos de VPH de alto riesgo oncogénico (los genotipos 16 y 18), responsables del 77% de los casos de cáncer de cuello uterino. Es muy importante la aplicación de las 2 dosis necesarias para que la protección sea realmente efectiva.
Se modificó el esquema de vacunación contra el virus del papiloma humano 5 de enero de 2015 – Fuente: Programa Nacional de Control de Enfermedades Inmunoprevenibles (Argentina).

La vacuna contra el Virus del Papiloma Humano (VPH) incorporada al Calendario Nacional de Vacunación en el año 2011, está destinada a las niñas de 11 años nacidas a partir del año 2000 con el propósito de disminuir la mortalidad por cáncer cérvico-uterino. Considerando la evidencia científica disponible con respecto a inmunogenicidad y eficacia del esquema de dos dosis, la implementación de este esquema en varios países de la región y del mundo, las coberturas nacionales, las recomendaciones internacionales (SAGE: Grupo de Expertos en Asesoramiento Estratégico sobre Inmunización de la Organización Mundial de la Salud; GTA: Grupo Técnico Asesor de la Organización Panamericana de la Salud) y las nacio-

nales (grupo de trabajo de expertos nacionales y la Comisión Nacional de Inmunización) se recomienda lo siguiente:

• Simplificar el esquema de vacunación contra VPH a un esquema de dos dosis con intervalo de 6 meses entre la primera y segunda dosis (0-6 meses). Si la segunda dosis fue administrada antes de los 6 meses, deberá aplicarse una tercera dosis respetando los intervalos mínimos (4 semanas entre 1ª y 2ª dosis, 12 semanas entre 2ª y 3ª dosis). Este esquema se indicará si se inicia antes de los 14 años, en caso de iniciar un esquema atrasado en niñas mayores de 14 años deberán recibir tres dosis (0-2-6 meses).

• Continuar con el esquema de tres dosis en personas de cualquier edad que vivan con VIH y trasplantados (0-2-6 meses).

• Continuar los esfuerzos para completar los esquemas de vacunación.

Vacuna anti Rotavirus

A partir del 1 de enero de 2015 se incorporó la vacuna contra Rotavirus en la Argentina, para los bebés menores de 6 meses.

El Ministerio de Salud emitió los lineamientos para la vacunación gratuita contra Rotavirus, causantes de la mayoría de las gastroenteritis en los menores de 5 años, con un importante índice de morbimortalidad. Sin la inmunización contra Rotavirus, la gran mayoría de los niños de entre 3 y 5 años presentan al menos un episodio de infección. Las manifestaciones clínicas varían entre episodios leves de diarrea a gastroenteritis grave con deshidratación y riesgo de muerte.

La diarrea aguda está entre los principales causantes de enfermedad y muerte en la primera infancia, especialmente en poblaciones vulnerables y según datos de la Organización Mundial de la Salud es la tercera causa global de mortalidad en menores de 5 años.

En Argentina, se notifican entre 1.100.000 a 1.250.000 casos de diarreas agudas por año, entre los cuales el 45y el 50% pertenece a niños menores de 5 años, lo que equivale a 490.000 y 550.000 casos de diarreas anuales. De éstas, se estima que entre un 20% y un 30% son producidas por Rotavirus. El grupo etario más afectado y que presenta mayor riesgo de complicaciones, que derivan en internaciones por deshidratación y muerte, son los menores de 2 años.

La vacunación contra Rotavirus es una oportunidad importante no sólo para disminuir la diarrea grave causada por Rotavirus y la mortalidad, sino también el impacto socio económico negativo generado por la enfermedad que representa un motivo frecuente de ausentismo laboral en los padres.

El esquema completo de vacunación antirrotavírica se compone de 2 dosis que deberán ser administradas con el siguiente esquema en lactantes inmunocompetentes, acompañando al resto de vacunas del Calendario Nacional correspondientes por edad:

• 1° dosis : 2 meses de edad.
• 2° dosis : 4 meses de edad.

Si estos bebés concurrieran a vacunarse tardíamente (más de 2 meses) pero sin haber superado las 14 semanas y 6 días, deberán iniciar el esquema. Recibirán dos dosis de vacuna, separadas entre sí por un período mínimo de 4 semanas entre ellas, completando el esquema de vacunación antes de las 24 semanas (6 meses) de vida.

La vacuna a utilizar es la llamada monovalente. Se administran 2 dosis de 1,5 ml por vía oral.

Esquema: 2-4 meses de edad.
Intervalo mínimo entre dosis: 4 semanas.
Edad mínima de administración de la primera dosis: 6 semanas de vida.
Edad máxima para la administración de la primera dosis: 14 semanas y 6 días.
Edad máxima para administración de la última dosis: 24 semanas (6 meses y
0 días de vida).

Los bebés prematuros pueden y deben aplicarse la vacuna contra Rotavirus según su edad cronológica (si han sido dados de alta de la maternidad) y en dosis estándar, ya que se logra similar eficacia a la de los nacidos a término y sin presentar mayor tasa de complicaciones.

Vacuna anticoqueluche

La aparición de la vacuna bacteriana a células enteras en la década del ‘50, combinada con las de difteria y tétanos, disminuyó en forma espectacular la incidencia de la coqueluche. De todas maneras, las bajas coberturas de vacunación, permitieron la aparición de epidemias cíclicas.

Entre las décadas del ‘70 y del ‘80 en Japón se desarrolló otra vacuna, con menos efectos colaterales por no contener la bacteria completa; de allí su identifica-

ción como "acelular".
Se presenta similar a la DPT, asociada a antidiftérica y antitetánica, pero modificada en el componente pertussis (sólo antígenos), para reducir los efectos colaterales a prácticamente la mitad. Se la identifica como DPTa. No contiene la bacteria completa, sino una forma inactivada de la toxina pertussis o pertusina, altamente purificada.
En 1984, se obtuvo una cepa mutante de Bordetella pertussis por ingeniería genética, carente de toxicidad, conservando todas las propiedades inmunogénicas. Su ventaja primordial es la buena tolerancia, aunque estudios recientes revelan que en el refuerzo entre los 15 y 18 meses, se produce un mayor porcentaje de reacciones inflamatorias en el lugar de aplicación.
La inmunogenicidad de las vacunas acelulares es similar o mayor que las de células enteras. La respuesta de anticuerpos es principalmente mayor para la hemaglutinina filamentosa.

Vacuna contra la Fiebre Amarilla
Es una vacuna a virus vivos atenuados obtenida en huevos embrionados de pollo.
Es de reglamentación internacional y deben recibirla:

*Viajeros que ingresan o salen de zonas endémicas o epidémicas.
* Residentes de zonas endémicas o epidémicas infestadas por el mosquito Aedes aegypti.
* Población de provincias limítrofes con áreas de riesgo: en la actualidad existe en nuestro país, un programa de vacunación antiamarílica en las provincias de Misiones, Corrientes, Entre Ríos, Salta, Jujuy, Formosa y Chaco, por la proximidad con Brasil y Bolivia, en donde existen áreas de epizootia.

Se aplica una dosis de 0,5 ml tanto en niños como en adultos por vía intramuscular o subcutánea, en la región anterolateral del muslo o parte superior del brazo (músculo deltoides). Puede aplicarse a partir de los 9 meses de edad aunque en situaciones de riesgo puede administrase a partir de los 6 meses
La eficacia es mayor al 95% y la protección se alcanza después de los 10 días de aplicada la vacuna.
La inmunidad es duradera, probablemente para toda la vida, no siendo necesaria la revacunación rutinaria pero por el reglamento sanitario internacional el Certificado Internacional de Vacunación contra la fiebre amarilla, exige revacunaciones cada 10 años en caso de viajes a zonas endémicas o en caso de epidemia.
En general, es bien tolerada pero en el 2 al 5% de los vacunados es posible que ocurran entre el 5º y 10º día postvacunación efectos adversos:

Locales: eritema, dolor.
Generales: fiebre moderada, cefalea, mialgia y malestar. Hipersensibilidad inmediata, caracterizada por rash, urticaria y/o asma, es extremadamente rara (Tasa 5 - 20/1.000.000 de dosis) y ocurre en personas con historia de alergia al huevo.
Excepcionalmente puede producir encefalitis, sobre todo en menores de 4 meses de edad (Tasa 500 -4.000/1.000.000 de dosis en menores de 6 meses). Por esta razón la vacuna está contraindicada en el primer semestre de vida.
Ha sido reportada la ocurrencia, en personas inmunocompetentes que han recibido la vacuna, de una enfermedad multisistémica semejante a la producida por la infección natural por el virus de la fiebre amarilla. El virus vacunal fue aislado y en el secuenciamiento del genoma de los virus, no fue posible demostrar ninguna mutación capaz de explicar esta alteración en la característica biológica. Son eventos muy raros determinados por factores estrictamente individuales aún desconocidos.
Está contraindicada en:

— Niños menores de 6 meses de vida.
— Reacción anafiláctica a la ingestión de huevos y sus derivados.
— Inmunocomprometidos.
— En lo posible no vacunar durante el embarazo. De ser necesario, no aplicar antes del 6to mes de embarazo.

La vacuna contra la Fiebre Amarilla se puede administrar simultáneamente con cualquier vacuna, incluso con otras vacunas inyectables de virus vivos atenuados (sarampión, rubéola, parotiditis, varicela); siempre y cuando sean aplicadas en sitios diferentes.
Si la vacuna antiamarílica no se administra simultáneamente con las vacunas inyectables de virus vivos (sarampión, rubéola, parotiditis, varicela), se deberán aplicar respetando un intervalo mínimo de 4 semanas.
Se puede administrar la vacuna antiamarílica a personas que reciben profilaxis antimalaria, no afectándose la respuesta inmunitaria. Las gamaglobulinas no interfieren la respuesta inmunitaria de la vacuna.

Vacuna contra la Fiebre Hemorrágica Argentina

Como resultado de un proyecto de colaboración internacional desarrollado a partir de 1979 se obtuvo un clon atenuado del virus Junín que se utilizó como principio activo de la vacuna denominada Candid 1.

Es una vacuna segura e inmunogénica, con una eficacia en hombres de 15 a 65 años de edad del 95,5%.

La vacuna forma parte de un programa de vacunación desde mayo del 2007, según resolución del Ministerio de Salud de la Nación, el cual establece la vacunación a partir de los 15 años de edad en las áreas endémicas de las provincias de Santa Fé, Córdoba, Buenos Aires y La Pampa.

La fabricación nacional de la vacuna contra la Fiebre Hemorrágica Argentina, Candid 1, se realiza en el Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas Julio Maiztegui, dependiente de la Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud, dado que es el primer laboratorio nacional habilitado para la producción de vacunas virales humanas con certificación del cumplimiento de las normas internacionales de Buenas Prácticas de Manufactura.

Vacunas no incluidas en el calendario de vacunación 2015

Vacuna anticolérica

Existen dos vacunas orales; la CVD103-HgR y la WC-rBS.

1) CVD103-HgR: Vacuna modificada genéticamente, que ha demostrado seguridad con escasas reacciones adversas de tipo gastrointestinal. Ha producido buena respuesta de anticuerpos frente a los serotipos Inaba (tasas de seroconversión en más del 90%) y Ogawa (tasas del 75%). En niños oscila entre el 50 y 75%. La vacuna es efectiva contra los dos biotipos: clásico y El Tor.

Está compuesta por bacterias vivas atenuadas, derivadas de la cepa salvaje (biotipo Clásico -serotipo Inaba 569B) y elaborada por ingeniería genética. La dosis se presenta en 2 sobres: uno con la vacuna liofilizada y el otro con sales de carbonato y ácido ascórbico, como protectores del pH gástrico. Para prepararla se vierte el contenido de ambos sobres en 100 ml. de agua fría (exclusivamente).

2) WC-rBS: A bacterias inactivadas con formalina y calor. Contiene cepas O1 Inaba, biotipos clásico y El Tor; O1 Ogawa, biotipos clásicos; subunidad B de la toxina del cólera recombinante (TCBr). Se presenta también como suspensión (en vial) y granulado efervescente (en sobre), que conformarán una suspensión al ser preparada.

Indicaciones

1) CVD103-HgR: Se puede utilizar a partir de los 2 años. Es ideal para el control del cólera epidémico y para el viajero, por su rápida protección: ésta se inicia unos 8 días después de la toma y se mantiene alrededor de 6 meses.

Debe administrarse con al menos una hora de ayuno previo y una posterior. Su eficacia es del 50% aproximadamente.

Si se viaja de regiones no endémicas a otras endémicas, puede ser recomendable una revacunación pasados 6 meses. Estar vacunado no implica dejar de tomar todas las medidas preventivas habituales higiénico-dietéticas.

2) WC-rBS: También a partir de los 2 años y también efectiva para el control del cólera epidémico y para personas que se radicarán en áreas epidémicas. Puede usarse como prevención para el viajero, para estadías cortas. En niños mayores de 6 años y en adultos, son suficientes 2 dosis. En los menores de entre 2 y 5 años, se deben administrar 3 dosis. El esquema debe completarse antes de una semana de ingresar a la región endémica.

La presentación efervescente debe disolverse en 150 cc de agua fría, donde se incorporará la suspensión (la vacuna preparada permanece activa durante dos horas). En los menores de entre 2 a 5 años, una vez preparada, se deben eliminar 75 cc. Debe administrarse una hora antes o una hora después de la ingesta de alimentos.

El intervalo entre dosis no debe ser menor a una semana ni mayor a seis. De superarse este último lapso, debe repetirse el esquema.

Contraindicaciones

- Embarazadas
- Inmunodeprimidos.
- Menores de 2 años.

No se debe administrar en caso de enfermedades febriles agudas o infecciones intestinales agudas. Debe tenerse en cuenta, que en un 5% de los vacunados, hay excreción fecal de cepa vacunal, durante 24-48 horas.

Vacuna contra la varicela

Es una vacuna a virus vivo atenuado. La vacuna puede administrarse desde los 9 o 12 meses dependiendo de la marca comercial y hasta los 12 años en dosis única en los individuos susceptibles. En los mayores de 12 años susceptibles el esquema es de dos dosis con 30-60 días de intervalo. En los adultos, los grupos prioritarios para la vacunación son los individuos susceptibles: personal del equipo de salud, personal de educación, personal de las fuerzas de seguridad, mujeres en edad fértil no gestantes.

El uso de la vacuna dentro de los 3 días postexposición ha demostrado una eficacia protectora en más del 90%.

Está demostrado en la bibliografía que puede utilizarse como un mecanismo de bloqueo de la enfermedad, si se utiliza dentro de las 24-48 horas (93% de eficacia) del contacto con el caso índice y en aquellos pacientes que pueden recibir vacunas a virus vivos. Con el correr del tiempo se pudo observar que pacientes adecuadamente vacunados y expuestos a varicela cursaban la enfermedad, pero en su gran mayoría, presentaban características leves.

En los países en donde se ha incorporado la vacuna, el número de internaciones por varicela complicada se ha reducido, como así también, la infección en niños mayores y en adultos. No se han observado complicaciones importantes, ni tampoco mayor incidencia de herpes zoster en la población vacunada. No se ha demostrado que la vacuna aumente el riesgo de reactivación de herpes zoster, tanto en huéspedes normales, como en pacientes inmunosuprimidos; por el contrario, los pacientes vacunados pre-sentan una menor frecuencia de recurrencia si se compara con el virus salvaje.

Quedan todavía algunos interrogantes, como la posibilidad de trasladar una enfermedad de aparición temprana en la vida, a etapas más tardías con un comportamiento diferente si se mantiene el plan de vacunación actual; si los pacientes que presentan la enfermedad después de la vacunación tendrán el mismo comportamiento o si la pade-cerán en etapas más tardías de la vida.

Debemos conocer también que para que una vacuna tenga el impacto epidemiológico deseado deberá estar cubierta más del 90% de la población y esto sería posible sólo con la incorporación al calendario nacional de vacunación, hecho que por ahora, parece poco factible frente a otras prioridades, como por ejemplo, la hepatitis A. Por lo tanto, por el momento, queda en manos de los pediatras, la decisión individual de indicar la vacuna.

Con respecto a costos y beneficios, en aquellos países que han incorporado la vacuna en forma masiva se ha demostrado una disminución significativa de los costos que la enfermedad ocasiona, así como de sus complicaciones, con el ahorro económico correspondiente.

Vacuna antimeningocócica

La inmunización masiva contra la enfermedad meningocócica no se recomienda por el bajo riesgo de adquirir la infección en la población. Si bien no hay consenso para su uso se recomienda su aplicación en caso de brotes o epidemias.

El antígeno inmunizante deriva del polisacárido capsular de Neisseria meningitidis. Se presentan las siguientes combinaciones: Grupo A, Grupo C, A+C, B+C (bivalentes), A+C + Y+W 135 (tetravalente). La vacuna se administra en una sola dosis subcutánea en las personas de riesgo, induce anticuerpos específicos luego de 7 días de su aplicación.

Vacuna antirrábica

Las vacunas antirrábicas de uso humano emplean como agente inmunizante el virus de la rabia, inactivado. Todas las vacunas emplean un descendiente del virus original producido en el laboratorio por el Dr. Louis Pasteur.

Actualmente existen dos tipos de vacunas en el país:

1) Vacunas de tejido nervioso (Fuenzalida-Palacios o CRL):

Vacuna trivalente; cepas CVS, 51 y 91; cultivadas en cerebro de ratón lactante e inactivadas. Su aparición se remite a la década de 1950, y sus efectos colaterales eran varias veces menores que una vacuna precedente. Desde 1963, se utilizó en seres humanos y es, la más usada en la Argentina.

Debe mantenerse refrigerada a 2º y 8ºC, pero a temperatura ambiente pierde rápidamente su potencia. Estas vacunas líquidas tienen validez por un año a partir de la fecha de producción.

Se aplica por vía subcutánea, en la región glútea alta, en los músculos deltoides o interescapular. Se deben rotar los sitios de inoculación. A los 10 días de la aplicación de 3 dosis consecutivas, el nivel de anticuerpos circulantes es muy bajo. Si se aplican dosis de

refuerzo tampoco se alcanza el nivel de protección (0.5 UI / ml). Se considera que el nivel se alcanza recién con 5 dosis o más.
Este tipo de vacuna se produce en la Argentina, en el Instituto Pasteur (Buenos Aires); Instituto Nacional de Producción de Biológicos, ANLIS-Malbrán; Laboratorio Central de Salud Pública de la Provincia de Buenos Aires.

2) Vacunas de cultivos celulares (Células diploides humanas o VCDH; Células VERO o PVRV):
Cepa Wistar, Pitman - Moore 38-1503-3M, cultivada en células Vero. La necesidad de vacunas más potentes y con menores efectos adversos derivó en la aparición de vacunas cultivadas en tejidos celulares no nerviosos.
De buena estabilidad; conservada entre 2ºC a 4ºC se mantiene estable durante 5 años, y a 37ºC, durante 3 años. Es la ideal para regiones con temperaturas elevadas.
Se aplica por vía intramuscular, en la región deltoidea. A la semana ya hay anticuerpos detectables y, a los 14 días del inicio de la serie, se obtiene el 100% de seroconversión y los anticuerpos persisten por varios años. Esta situación no puede predecirse en inmunosuprimidos, por lo que se debe hacer serología postvacunación para conocer el estado de inmunidad antirrábica.

3) Vacunas en huevos embrionados (embrión de pollo o PCEC; embrión de pato o DEV):
Las últimas son las más usadas hoy en día. Cepa Pitman-Moore (PM). Se debe conservar entre 2º-8 ºC. Por ser liofilizada se mantiene estable por varios años; una vez reconstituida se debe aplicar de inmediato.
Se administra por vía intramuscular, en la región deltoidea. Aunque es menos recomendable, también puede aplicarse por vía intradérmica. Se obtiene el 100 % de seroconversión luego de 14 días de iniciado el tratamiento. A los 7 días es posible medir anticuerpos, aún cuando su título no es protectivo (menos de 0.5 UI / ml).

Indicaciones
Se utilizan para:

a) Pre-exposición: Prevención de la rabia en sujetos expuestos a riesgo de contaminación:
Trabajadores de laboratorios de diagnóstico, investigación, producción y control que trabajan con este virus, Veterinarios, Espeleólogos, Personal en contacto con la vida silvestre y en contacto con animales salvajes, Cuidadores de animales, Viajeros en turismo aventura en áreas endemo-epidémicas.

b) Post-exposición: Tratamiento después de la infección comprobada o posible con el virus de la rabia

- En exposición leve si el animal agresor desaparece o no es posible su identificación.
- En exposición grave si el animal agresor desaparece o mientras se inicia su observación.
- Lameduras o rasguños de animales sospechosos desaparecidos.
- Heridas profundas o en las mucosas.
- En toda mordedura por especies silvestres.
- Personal de laboratorio accidentado con material contaminado (aún si recibió profilaxis pre-exposición)

Bibliografía

- http://www.msal.gov.ar/index.php/component/content/article/46-ministerio/184-calendarionacional de-vacunacion-2014.
- Marco del Pont, J. 2004. Calendario de Vacunación en Argentina. Arch. Argent. Pediatr. 102 (1): 5-7.

Capítulo 29
Bioseguridad

"Quien resuelve problemas es capaz, pero mejor es quien sabe prevenirlos..."

En la mayoría de las prácticas el médico, el microbiólogo, y en general, todos los integrantes del equipo de salud se encuentran expuestos a diferentes situaciones de riesgo inherentes al ejercicio de la profesión.
Existen distintos tipos de riesgo. El riesgo biológico es aquél donde el agente capaz de producir el daño es un ser vivo (bacteria, virus, hongos y parásitos), presente en un paciente como causal de enfermedad o también en una muestra o material infeccioso.
El conjunto de medidas, normas y procedimientos destinados a controlar y minimizar el riesgo biológico se denomina Bioseguridad.
El término bioseguridad se utiliza para designar el conjunto de medidas diseñadas para prevenir accidentes laborales a individuos expuestos a riesgo biológico, particularmente aquellas referidas a limitar la diseminación de agentes infecciosos. Dichas medidas reciben el nombre de normas de bioseguridad.
La Bioseguridad como disciplina nació durante la década del '70, en respuesta operativa hacia los riesgos potenciales de los agentes biológicos modificados por Ingeniería Molecular. A partir de los trabajos de P. Berg (1974) se creó el Comité Asesor de ADN recombinante. En 1983 la Organización Mundial de la Salud (OMS) edita el Manual de Bioseguridad en el laboratorio que pasa a ser la publicación internacional de referen¬cia. En 1985 el Centro de Control de Enfermedades Infectocontagiosas (CDC) desarrolló una estrategia de "Precauciones Universales para sangre y fluidos corporales" para referirse a las preocupaciones que existían acerca de la transmisión de Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) en el lugar de trabajo. Se les llama universales porque deben ser aplicadas en todos los casos, sin excepción, independientemente de la sospecha clínica o la información de que se disponga acerca de dicho material o paciente ("...toda persona debe ser considerada como un potencial portador de enfermedades transmisibles por sangre..."). Para su mejor comprensión, es interesante conocer que dicha denominación fue adoptada en el año 1981, coincidente con la aparición de los primeros casos de SIDA, haciendo referencia a la manipulación de fluidos y materiales biológicos de pacientes con dicha enfermedad. La aparición del VIH originó
la publicación de Normas de Bioseguridad Internacionales, Nacionales, Regionales, Provinciales, de Instituciones Científicas y Asistenciales.
El tema de la Bioseguridad es un tema importantísimo que nos concierne a todos los agentes de la salud; su conocimiento y adecuada aplicación son requisitos indispensa-bles para el trabajo.
Se ha demostrado que la mayoría de los accidentes conocidos podrían haberse evitado con una combinación de buena técnica, equipos de seguridad apropiados y conocimiento de las normas de bioseguridad por parte del sujeto interesado. Por lo tanto, resulta fundamental su conocimiento y adecuado cumplimiento. Un punto clave lo constituye el entrenamiento de todo el personal de salud, ya que técnicas inadecuadas por desconocimiento de las normas de bioseguridad pueden comprometer las mejores medidas de seguridad y equipamiento provistos específicamente para protegerlo.
Una preocupación fundamental en el laboratorio que maneja muestras y agentes infecciosos la constituye el riesgo de exposición e infección que corre el personal especializado y auxiliar que trabaja o entra en dicho laboratorio. Ocasionalmente el personal de laboratorio puede verse expuesto a microorganismo de alto riesgo, por lo tanto es importante conocer y respetar los principios básicos junto a una adecuada técnica microbiológica. Ésta resulta fundamental y no puede ser sustituida sólo por equipamiento especializado.

Modos de infección más frecuentes

· Inoculación accidental debida a pinchazos o cortes con agujas, pipetas, bisturíes
· otros elementos punzantes.
· Exposición de la piel o mucosas a sangre, hemoderivados u otros fluidos biológicos contaminados especialmente cuando la permeabilidad

de las mismas se encuentra alterada (heridas, escoriaciones, eczemas, herpes, conjuntivitis o quemaduras).
· Inhalación de aerosoles producidos al agitar muestras, al destapar tubos, al expulsar la última gota de una pipeta, durante la centrifugación, especialmente cuando se emplean tubos abiertos o con mayor volumen del aconsejado por el fabricante en una centrífuga de ángulo fijo o cuando ésta es frenada abruptamente para ganar tiempo.
· Salpicaduras en los ojos o aspiración bucal.
Es difícil cuantificar el riesgo que supone trabajar con agentes infecciosos en un laboratorio; éste aumenta junto con la frecuencia y el nivel de contacto con el agente. Se ha visto también que los riesgos están bajo la influencia de las interrelaciones, a menudo imprevisibles entre agentes, huéspedes y actividades.
Los factores que determinan el nivel de riesgo están relacionados al agente, al hospedero o a la actividad.

a) Relacionados al agente: virulencia, patogenicidad, dosis infecciosa, vía de infección, toxigenicidad, estabilidad biológica, transmisibilidad, endemicidad.
b) Relacionados al hospedero: edad, sexo, raza, embarazo, presencia de y nivel de anticuerpos e inmunidad celular, disponibilidad y uso de vacunas, compuestos tera-péuticos específicos y medicaciones.
c) Relacionados a la actividad: diagnóstico, producción, investigación. En este aspecto varían el tipo, la cantidad y concentración de agentes manejados, prácticas realizadas en el trabajo con el agente y efectividad de los equipos de contención en el laboratorio.

Clasificación de los microorganismos infecciosos por grupo de riesgo

Grupo I: Escaso riesgo individual y comunitario
Microorganismos con pocas posibilidades de provocar enfermedades en hombres y animales.
Grupo II: Riesgo individual moderado, riesgo comunitario bajo
Microorganismos que pueden provocar enfermedades en humanos o animales; en caso de adquisición de la infección en el laboratorio hay medidas eficaces para tratamiento y prevención, y el riesgo de propagación es limitado.
Grupo III: Riesgo individual elevado, riesgo comunitario escaso
Microorganismos patógenos que suelen causar enfermedades humanas graves para las cuales hay tratamiento y prevención, generalmente no se propagan de una persona infectada a otra.
Grupo IV: Riesgo elevado individual y comunitario
Microorganismos patógenos que suelen causar enfermedades humanas y animales graves, pueden propagarse fácilmente y no existe tratamiento ni prevención.
A su vez, los laboratorios se designan de acuerdo a sus características de diseño, construcción y facilidades de contención en Niveles de Seguridad Biológica:

· Básico- Nivel de Bioseguridad 1
· Básico- Nivel de Bioseguridad 2
· Contención- Nivel de Bioseguridad 3
· Máxima contención- Nivel de Bioseguridad 4

Precauciones para el personal de salud en general

1.- Precauciones Universales:
Todos los trabajadores de la salud deben utilizar rutinariamente los métodos de barrera apropiados cuando deban intervenir en maniobras que los pongan en contacto directo con la sangre o los fluidos corporales de los pacientes.
Dicho contacto puede darse tanto en forma directa, atendiendo a un paciente, como durante la manipulación de instrumental o de materiales extraídos para fines diagnós-ticos como en la realización de procedimientos invasivos, incluyendo en ellos a las venopunturas y extracciones de sangre. En todos los casos es necesario el uso de guantes o manoplas.

· Deben utilizarse barbijos y protectores oculares en los casos en los que por la índole del procedimiento a realizar pueda preveerse la producción de salpicaduras de sangre u otros fluidos que afecten las mucosas de los ojos, boca o nariz.
· Los delantales impermeables deben utilizarse en las situaciones en las que puede darse un contacto con la sangre u otros líquidos orgánicos del paciente, que puedan afectar las propias vestimentas.
· El lavado de manos luego del contacto con cada paciente, se hayan usado o no guantes, es una medida de uso universal para prevenir cualquier tipo de transmisión de infecciones y debe ser mantenido también para el caso de la infección por el VIH.
Se deben tomar todas las Precauciones para disminuir al mínimo las lesiones producidas en el personal de

salud por elementos punzo-cortantes. Para ello es necesario:

a) Extremar el cuidado en el mantenimiento de una buena técnica para la realización de intervenciones quirúrgicas, maniobras invasivas y procedimientos diagnósticos o terapéuticos.

b) Luego de su uso, los instrumentos punzo cortantes y las agujas y jeringas, deben ser colocados en recipientes para su descontaminación previa al descarte, o al lavado en caso de elementos reutilizables. Estos recipientes deben ser perfectamente amplios, de paredes rígidas o semirrígidas, con tapa asegurada para su posterior descarte y contener en su interior, una solución de hipoclorito de sodio al 1% preparada diariamente y estar ubicados lo más cerca posible del lugar de uso de los instrumentos.
c) No se debe reintroducir la aguja descartable en su capuchón o tratar de romperla o doblarla.
d) El material no descartable permanecerá 30 minutos en la solución de hipoclorito de sodio al 1% y recién entonces podrá ser manipulado, lavado y reesterilizado sin riesgo alguno para el operador.
e) Se debe reducir al máximo la respiración directa boca a boca, ya que en este pro-cedimiento puede existir el contacto con la sangre. En las áreas donde pueda preverse su realización (salas de emergencias, internación o de procedimientos) debe existir disponibilidad de bolsas de reanimación y accesorios.
f) Los trabajadores de la salud que presenten heridas no cicatrizadas o lesiones dérmicas exudativas, deben cubrirlas convenientemente antes de tomar contacto con pacientes o manipular instrumental.
El embarazo no aumenta el riesgo de contagio por lo que no es necesario una interrupción anticipada de las tareas. Sólo se recomienda extremar las Precauciones enunciadas y no transgredirlas bajo ningún concepto.

2.- Precauciones para procedimientos invasivos:
A los fines de la aplicación de estas normas se entiende como procedimiento invasivo a las intervenciones quirúrgicas, canalizaciones, partos, punciones, endoscopias, prácticas odontológicas y cualquier otro procedimiento diagnóstico o terapéutico que implique en su desarrollo lesión de tejidos o contacto con la sangre.
a) En todos estos procedimientos son de aplicación las precauciones universales ya expuestas. Uso de guantes, de barbijo y protectores oculares si se preveen sal-picaduras en cara y delantales impermeables si es posible que la sangre atraviese las vestiduras normales (partos, cesáreas y ciertas intervenciones quirúrgicas).
b) En los partos vaginales o por cesárea, las precauciones deben mantenerse mientras dure la manipulación de la placenta y en el caso del recién nacido, hasta que de su piel haya sido eliminada la sangre y el líquido amniótico.
c) En la preparación del quirófano debe incluirse la incorporación de los botellones de aspiración, de solución de hipoclorito de sodio al 1% hasta cubrir 1/5 de su volumen.
d) Deben extremarse los cuidados para mantener la mejor técnica operatoria y evitar remover hojas de bisturí o reenhebrar agujas. Para ello es conveniente tener la suficiente cantidad de agujas enhebradas y más de una hoja de bisturí ya montada. Se debe utilizar doble mesa quirúrgica o receptáculo intermedio para evitar el contacto mano a mano.
e) Si un guante se rompe o es pinchado durante un

procedimiento debe ser reemplazado de inmediato, previo lavado de manos. La aguja o el instrumento causante del daño, debe ser eliminado del campo estéril.
f) Con el material ya usado, utilizar los procedimientos de desinfección o descontaminación descriptos en el punto 1 .d (inmersión en solución hipoclorito de sodio al 1% durante 30 minutos antes de su posterior manipulación para lavado y reesteriliza¬ción o descarte, según corresponda).

Precauciones de trabajo a tener en cuenta en el laboratorio

Extracción de sangre. La extracción de sangre debe hacerse siempre con guantes de látex y debe ponerse especial cuidado en la manipulación posterior que puedan requerir las jeringas y agujas hasta que puedan depositarse en la solución descontaminante. En el caso que imprescindiblemente se deba separar de la jeringa esta operación se hará mediante el uso de pinzas.

· Las puertas del laboratorio deberán estar cerradas y el acceso al mismo deberá estar restringido mientras se lleven a cabo trabajos con materiales biológicos. La puerta deberá portar emblemas que digan: Prohibido Pasar-Peligro Biológico.
· El laboratorio deberá ser mantenido limpio, ordenado y libre de materiales extraños.
· No se permitirá comer, beber, fumar y/o almacenar comidas así como el uso de cualquier otro ítem personal (ejemplo: cosméticos, cigarrillos) dentro del área de trabajo.
· Usar bata, chaqueta o uniforme dentro del laboratorio. Esta ropa protectora deberá ser quitada inmediatamente antes de abandonar el área de trabajo.
· Antes de iniciar la tarea diaria asegúrese que la piel de sus manos no presente cortes, raspones u otras lastimaduras, en caso que así sea, cubrir la herida de manera conveniente antes de colocarse los guantes.
· Usar guantes de látex de buena calidad para todo manejo de material biológico o donde exista aunque sea de manera potencial el riesgo de exposición o sangre o fluidos corporales.
· Cambiar los guantes de látex toda vez que hayan sido contaminados, lavarse las manos y ponerse guantes limpios.
· No tocar los ojos, nariz o piel con las manos enguantadas.
· No abandonar el laboratorio o caminar fuera del lugar de trabajo con los guantes puestos.
· El uso de agujas, jeringas y cualquier otro instrumento similar deberá ser restringido a su uso indispensable. Las agujas y otros elementos punzantes deberán ser descartados en un recipiente resistente. Se deberán evitar los intentos de reintro¬ducir las agujas descartadas en capuchones o de romperlas o doblarlas ya que esta conducta produce aumento de la posibilidad de accidentes por pinchazos o salpicaduras. No usar tijeras con puntas muy agudas. Por ningún concepto las agujas serán retapadas. El conjunto aguja-jeringa deberá ser descartado en el reci-piente destinado a tal fin.
· Todos los procedimientos deberán ser realizados de manera tal que sea nula la creación de aerosoles, gotas, salpicaduras.
· Bajo ninguna circunstancia se pipeteará sustancia alguna con la boca, para ello se usarán pipeteadores automáticos.
· Las superficies del área de trabajo deberán ser descontaminadas cuando se termine la tarea diaria. Usando para tal efecto una solución de hipoclorito de sodio en concentración adecuada.
· El recipiente para descontaminar especímenes deberá contar con tapa de seguridad, para todo traslado fuera del lugar de trabajo. En ese caso el exterior del recipiente deberá ser mantenido libre de toda contaminación con sangre usando solución descontaminante.
· El desecho de los fluidos orgánicos puede efectuarse por las cañerías habituales una vez que éstos han sido convenientemente descontaminados.
· Una vez usados los guantes de látex deberán ser colocados dentro del recipiente con solución descontaminante.
· Lavar las manos con jabón (líquido o sólido suspendido) y agua inmediatamente después que el trabajo haya sido terminado. Si los guantes de látex están deteriorados, lavar las manos con agua y jabón después de quitarlos.
· Informar inmediatamente a su superior de cualquier accidente ocasionado con ele-mentos del laboratorio.

Manejo y transporte de materiales biológicos
El manejo y transporte de muestras de manera inadecuada significan un riesgo de infección a toda persona directamente relacionada o en contacto con

todo o alguna de las partes del proceso.
El manejo impropio dentro del laboratorio pone en peligro no sólo al trabajador de laboratorio, sino también a administrativos y otro personal de apoyo. La transferencia de muestras entre laboratorios o instituciones amplía el margen de riesgo al público así como al personal de transporte.
Manejo y eliminación de material contaminado y desechos
· Todo elemento descartable como agujas y jeringas deberá ser colocado en un recipiente de material resistente a punciones y/o cortaduras.
· Para la eliminación de todo material contaminado el método de elección es la incineración de los mismos, si el incinerador estuviere ubicado en el predio del laboratorio y bajo el control del mismo. En caso contrario este material será autoclavado.
· Los recipientes para transportar materiales deberán ser herméticos y construídos con material resistente a roturas y deberán contar con tapa de seguridad.
· El transporte de los recipientes con las gradillas desde los lugares de recolección o entre laboratorios deberá ser hecho en cajas con tapas de seguridad adecuadamente ajustadas.

¿Cómo proceder en caso de accidente punzo-cortante?
1) Lavar la herida con abundante agua y jabón, efectuar antisepsia y realizar la curación pertinente.
2) Se debe identificar al paciente con cuya sangre o material se haya producido el accidente y valorar su posible condición de portador según la clínica, la epidemiología y el laboratorio.
3) Se debe solicitar el consentimiento del paciente para efectuar la serología. En caso de negativa del paciente, proceder como si fuera positivo.
4) Se deberá efectuar la serología a toda persona accidentada, dentro de las 72 horas de producido el accidente y en caso de resultar negativa repetirla a los 3, 6, 12 y 18 meses.
5) Informar acerca del accidente al Jefe del Área, registrar las circunstancias exactas en que se produjo, y consultar con un especialista para valorar si es necesario realizar algún tipo de profilaxis post-exposición.

PRECAUCIONES UNIVERSALES
Resumen

· Lavarse las manos antes y después de cada procedimiento independientemente de si se usan guantes. Lavarse las manos cuidadosamente con agua y jabón luego de exposición involuntaria a sangre o fluidos biológicos.
· Usar guantes cuando se anticipa el contacto con sangre o fluidos biológicos, membranas mucosas o piel no intacta o con superficies cubiertas con sangre o fluidos biológicos.
· Usar máscaras (barbijos) y protectores de ojos durante procedimientos que puedan generar salpicaduras o aerosoles en el aire. Usar batas o cubiertas protectoras plásticas cuando existen probabilidades de salpicaduras con sangre.
· Tener extraordinario cuidado en la manipulación de agujas u otros objetos puntiagudos.
· Eliminar todos los objetos puntiagudos en envases resistentes a las pinchaduras.
· Asegurarse de que siempre existan equipos de resucitación boca a boca en las emergencias.
· Excluir de la atención de pacientes a todo el personal con lesiones exudativas o dermatitis hasta que éstas hayan desaparecido.
· Descontaminar las superficies de trabajo donde ha habido salpicaduras inmediatamente o tan pronto sea posible con sustancias germicidas o con lavandina en una solución de 1:100 utilizando en este procedimiento guantes. Se deben secar las salpicaduras primero con toallas absorbentes y descartables o medios similares.

Bibliografía

• https://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf
• Joklek, W., Willet, H. y col. 1998. De Zinsser Microbiología. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. 2º Ed.
• Murray, P., Baron, E. et al. 1999. Manual of Clinical Microbiology. ASM press. 7th. Edition. Washington DC, USA.
• Ryan, K. et al. En: Sherris Microbiología Médica. 2011. Editorial McGraw-Hill, 5ª Ed. USA.

Capítulo 30
Bacterias y virus de importancia en patología médica

LOS AGENTES BACTERIANOS
Bacterias Aerobias
Cocos Gram Positivos
Género Streptococcus

El género Streptococcus pertenece a la familia Streptococcaceae. Está constituido por cocos Gram positivos que se distribuyen en cadenas (strepté: cadenas, del griego). Se clasifican de acuerdo a los siguientes criterios:

· producción de hemolisinas: alfa-hemolíticos (hemólisis parcial), beta-hemolíticos (hemólisis total) y gamma-hemolíticos (sin hemólisis)
· presencia de carbohidrato C en la pared celular (grupos serológicos): se designan con letras mayúsculas de imprenta de la A a la U (A, B, C, D, etc.)
· pruebas bioquímicas: para designación de especies: Streptococcus pyogenes, S. agalactiae, S. bovis, S. pneumoniae, etc.

Usualmente se encuentran como parásitos del hombre y de otros animales. Son colonizadores transitorios de la piel y residentes de las mucosas. Pueden ser aislados como parte de la flora normal de los tractos gastrointestinal, respiratorio superior y genital.

Streptococccus pyogenes: es un coco Gram positivo, se dispone en cadenas, inmóvil, catalasa negativa y microaerófilo. Se encuentra en el tracto respiratorio superior. Puede constituir parte de la microbiota transitoria de la faringe (individuo portador sano). Se disemina por gotitas transportadas por el aire. Produce numerosas enzimas que juegan un papel importante en la fisiopatogenia: toxina pirogénica estreptocócica (ex-toxina eritrogénica de Dick: mediada por fago lisogénico), estreptolisina (dos tipos: estreptolisina S -oxígeno estable- y estreptolisina O -oxígeno lábil-), estreptodornasa, estreptoquinasa, hialuronidasa (factor de diseminación) y dexorribonucleasa. Posee Carbohidrato C en su pared celular que permite seroagruparlo como Streptococcus beta hemolítico del grupo A de Lancefield. Desarrolla en medios de agar sangre produciendo beta hemólisis (hemólisis total de los glóbulos rojos). La pared celular posee una proteína llamada proteína M antigénica. Para su identificación se utiliza: la catalasa que identifica género diferenciándolo del género Staphylococcus; bacitracina cuyo resultado es sensible y la prueba de la pyrrolidonil aminopeptidasa (PYR) positiva, ambas para la identificación de especie.

Es el agente etiológico de enfermedades exudativas del tracto respiratorio superior (faringoamigdalitis, flemones periamigdalinos, etc.), piel y tejidos blandos (celulitis, eri-sipela, escarlatina); y de enfermedades no exudativas (post-estreptocócicas por inmu-nidad cruzada: fiebre reumática y glomerulonefritis aguda). Más raras son las septicemias, fiebre puerperal, endocarditis y artritis.

Streptococcus agalactiae: es un coc Gram positivo, que se dispone en cadenas. Forma parte de la microbiota transitoria de vagina y recto (individuos portadores sanos). Los neonatos adquieren el microorganismo de la madre colonizada en el momento del parto. Produce meningitis y septicemia neonatal. En la mujer es agente etiológico de infecciones urinarias, endometritis post-parto, bacteriemia. Se lo describe como agente etiológico de celulitis. Crece en medios de cultivos con sangre. Es beta-hemolítico. Pertenece al serogrupo B de Lancefield, ya que posee Carbohidrato C en su pared celular. Las pruebas identificatorias de especie son: la prueba de CAMP y la hidrólisis del hipurato.

Streptococcus pneumoniae: es un coco Gram positivo, lanceolado, inmóvil, capsulado (según este antígeno se clasifica en diferentes serotipos); que se dispone en diplos. En placas de agar-sangre es alfa hemolítico, no posee hidrato de Carbono C en su pared celular, por lo que no puede ser seroagrupado. Forma parte de la flora faríngea transitoria y se transmite a través de las gotitas de Phlügge. Es agente etiológico frecuente de infecciones de las vías aéreas superiores (otitis, sinusitis), del sistema nervioso central (meningitis) y de las vías aéreas inferiores (neumonías). Se lo aísla de muestras clínicas provenientes de los sitios mencionados y además se lo puede aislar de muestras sanguíneas (hemocultivos). Algunas cepas presentan resistencia a la penicilina. Se dispone de vacuna compuesta por el antígeno capsular que protege con-tra 23 de los serotipos más frecuentes.
Streptococcus viridans: es un grupo de cocos Gram positivos dispuestos en cadenas, alfa-hemolíticos no

poseyendo carbohidrato C en su pared celular. Las especies más importantes de este grupo son: S. mutans, S. mitis, S. sanguis, S. anginosus-milleri, S. bovis. Pertenecen a la flora normal de la boca, tracto gastrointestinal y vagina. Son agentes etiológicos frecuentes de endocarditis bacteriana subaguda a punto de partida de lesiones dentarias y peridentarias y manipulación de estas zonas.

S. bovis produce bacteriemia asociada con malignidad del tracto gastrointestinal (cáncer de colon). Esta especie es la única que posee carbohidrato C en su pared celular correpondiendo al grupo D de Lancefield.

Género Enterococcus

Son cocos Gram positivos lanceolados, que se disponen en diplo y cadenas cortas, anaerobios facultativos, catalasa negativa que pertenecen a la familia Streptococaceae, diferenciándose por pruebas bioquímicas de los otros géneros de la familia.

Estas bacterias son ubicuas, encontrándose en el suelo, agua, alimentos, plantas, animales, pájaros e insectos. En el hombre habitan el tracto gastrointestinal y el tracto genital femenino. Las dos especies de mayor importancia clínica son: E. faecalis y E. faecium. Las infecciones que producen generalmente son endógenas, destacándose las infecciones urinarias tanto ambulatorias como nosocomiales, infecciones de heridas quirúrgicas, bacteriemias de origen nosocomial y endocarditis.

Género Staphylococcus

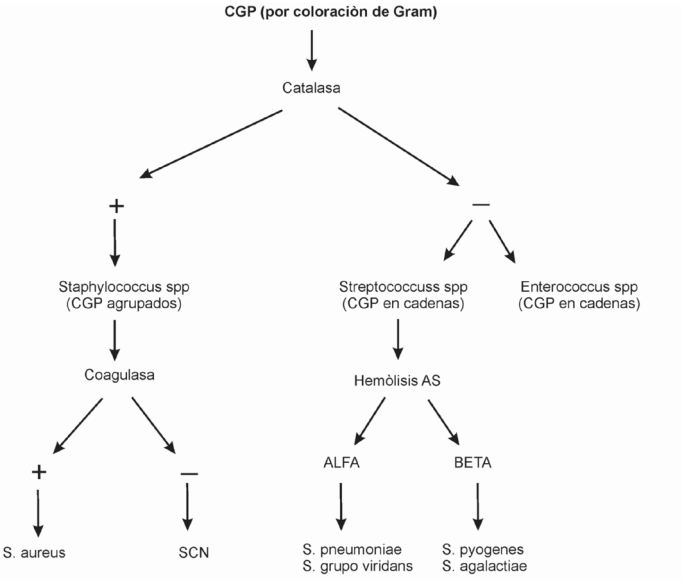
El género Staphylococcus que pertenece a la flia. Staphylococcaceae posee más de 20 especies, pero sólo cuatro son consideradas agentes etiológicos de frecuente aislamiento en patología humana: Staphylococcus aureus, S. epidermidis, S. saprophyticus, S. lugdunensis. Son cocos Gram positivos, aerobios y anaerobios facultativos, inmóviles, que se disponen en diplos, tétradas, agrupados en racimos; por su característica de dividirse en dos planos del espacio (ejes longitudinal y transversal). La prueba que permite identificar a la flia. Staphylococcaceae es la prueba de producción de catalasa. Esta prueba permite diferenciar a esta flia. de la flia. Streptococcaceae. Constituyen la flora normal de piel y mucosas. S. aureus se encuentra con mayor frecuencia en las zonas húmedas y seborreicas de la piel: frente, conducto auditivo externo, fosas nasales, zona peribucal, axilas, ingle, zona perineal, manos y pies. El S. epidermidis se encuentra en las zonas secas de la piel.

Staphylococcus aureus: coco Gram positivo que se dispone en tétradas, racimos o agrupados, aerobio y anaerobio facultativo, catalasa positiva y coagulasa positiva. Es microbiota normal del hombre especialmente en piel (nariz y periné) (zonas húmedas = portación de S. aureus). La virulencia de este agente es multifactorial. Se sabe que la mayoría de los siguientes factores se encuentran en la gran parte de las cepas: mucopéptido y coagulasa. Produce sustancias intra y extracelulares. Las intracelulares son: proteína A (interacciona inespecíficamente con la IgG del hospedero lo que reduce la opsonización y causa activación local del complemento), cápsula, colagenasa y prote-ína ligadora de fibronectina. Las extracelulares son: enterotoxinas (existen diferentes tipos de enterotoxinas adquiridas mediante un bacteriófago: A, B, C, D y E). En las cepas que causan intoxicación alimentaria: la toxina se encuentra preformada en el alimento contaminado: productos de pastelería que tengan crema, carnes procesadas como jamón y cerdo salado, helados. El diagnóstico de laboratorio en la mayoría de los casos no se realiza porque se trata de una diarrea autolimitada. Se podría detectar la presencia de toxina en los alimentos contaminados y raramente en las heces del paciente, toxina epidermolítica (exfoliatina), toxina de síndrome de shock tóxico (SST-1), y otras toxinas que lesionan la membrana (hemolisinas), leucocidina y estafiloquinasa. Produce forúnculos, infecciones cutáneas, infecciones de heridas quirúrgicas, síndrome de la piel escaldada, infección asociada a catéter, toxiinfección alimen-taria, septicemia, endocarditis en válvula protésica y en pacientes adictos endovenosos, síndrome del shock tóxico, osteomielitis y neumonía.

Staphylococcus coagulasa negativa (SCN): S. epidermidis y saprophyticus: son catalasa positiva, coagulasa negativa. S. epidermidis no fermenta el manitol. S. saprophyticus es resistente a la novobiocina. Este último se presente con frecuencia en mucosa genitourinaria, produciendo ITU por diseminación endógena en mujeres colonizadas en edad sexualmente activa.

S. epidermidis produce limo (slime) extracelular, marcador de virulencia, que es responsable de la capacidad para colonizar implantes de plástico (catéteres intravenosos y prótesis).

Algoritmo de identificación frente al desarrollo aeróbico de cocos Gram positivos que puedan crecer en medios de cultivos agar sangre o CLED.



Cocos Gram Negativos

Género Neisseria

El género Neisseria pertenece a la flia. Neissereaceae. Son diplococos Gram negativos (borde plano adyacente que le da una característica apariencia de riñón, granos de café, porotos). Hay especies saprófitas y patógenas. Las especies saprófitas: N. lacta-mica, N. sub flava, N. flavescens, N. elongata, N. denitrificans se encuentran en la flora normal de las membranas mucosas de oro y naso faringe, uretra anterior, vagina y conjuntivas del hombre.

Neisseria meningitidis: son diplococos Gram negativos, microaerófilos, inmóviles, capsulados. Forman parte de la flora transitoria de faringe. El estado de portador aumenta en la población durante las epidemias. Se disemina por gotitas de Phlügge. Existen varios tipos capsulares inmunológicamente diferentes (serogrupos): A, B, C, D. E29, H, I, K, L, W135, X, Y y Z. Los serogrupos Ay C producen brotes epidémicos y el serogrupo B está implicado en infecciones esporádicas durante los períodos interepi-démicos aunque pueden producir brotes localizados. Se dispone de vacunas para los tipos A, B y C. Produce meningitis bacteriana en el adolescente y el adulto. Crece bien en medios enriquecidos (agar-chocolate) con 5-10% de CO2. Son oxidasa positiva, igual que todas las especies del género, pero se diferencia de Neisseria gonorrhoeae por la utilización de glucosa y maltosa.

Neisseria gonorrhoeae: es un coco Gram negativo que se dispone de a pares en forma arriñonada, microaerófilo, susceptible a cambios de temperatura, desecación, enfriamiento y exposición a un pH desfavorable y la luz solar; con lo que se convierte en un microorganismo lábil. Debe ser manipulado en el laboratorio sin la más mínima tardanza. Produce catalasa y citocromo oxidasa (oxidasa positiva) y oxida la glucosa.
Es un microorganismo exigente con requerimientos nutricionales complejos: por ejemplo hierro. Presenta pili o fimbrias con capacidad de adherencia a la célula huésped, LOS (lipooligosacárido) de pared celular y proteínas de membrana externa (PI, PII y PIII). PI actúa como porina, PII permite la adherencia y es un factor de opacificación y PIII se une a anticuerpos bloqueadores que impiden la acción de los anticuerpos bactericidas (todos estos son considerados antígenos y factores de virulencia).
Como factores de virulencia únicos presenta además Ig A proteasa y proteínas regula-doras de hierro y receptores de lactoferrina y transferrina.
Las muestras obtenidas de sitios normalmente estériles (LCR, líquido sinovial, sangre) se cultivan en medios enriquecidos no selectivos, como el agar chocolate con factores de crecimiento. Para aquellas muestras que provienen de zonas normalmente colonizadas (uretra, endocérvix, faringe, recto, conjuntiva) se requieren medios de cultivos enriquecidos y selectivos (Thayer- Martin, New York City).

Bacilos Gram Positivos

No esporulados

Los bacilos Gram positivos aerobios no esporulados constituyen un grupo heterogéneo.

Género Corynebacterium

Las corinebacterias son bacilos Gram positivos pequeños habitualmente pleomorfos que se agrupan en empalizada y formando letras chinas. Presentan gránulos metacromáticos intracitoplasmáticos que pueden ser visualizados con tinciones especiales.
Son bacterias aerobias o anaerobias facultativas que crecen lentamente en medios enriquecidos. Son inmóviles, catalasa positiva y fermentan los hidratos de carbono.
Se encuentran ampliamente distribuidos en vegetales

y animales y son colonizantes normales de la piel y los tractos respiratorio alto, gastrointestinal y urogenital del ser humano. Son patógenos oportunistas.

Corynebacterium diphtheriae: bacilo Gram positivo no esporulado, inmóvil y no capsulado que se dispone en letras chinas. En los extendidos teñidos con Gram presenta tinción irregular y presencia de gránulos característicos (corpúsculos metacromáticos). Es aerobio y anaerobio facultativo. Existen cepas toxigénicas y cepas no toxigénicas. Las cepas no toxigénicas se encuentran en la microbiota transitoria del tracto respiratorio superior. Cuando estas cepas son transducidas por un bacteriófago (profago beta) adquieren la capacidad para producir una toxina, que es el factor de virulencia específico de esta bacteria. Es el agente etiológico de la difteria. Esta enfermedad se previene con la vacuna DPT (difteria, tos convulsa y tétanos). Se trata de una enfer-medad en remisión en la mayor parte del mundo. Sin embargo todavía hoy aparecen casos esporádicos y brotes epidémicos en algunas regiones (Rusia y países ex-integrantes de la URSS). La muestra clínica a procesar es parte de la membrana que al desprenderse sangra. Para el cultivo se requieren medios selectivos (agar sangre con telurito de potasio y cisteína, agar de Löeffler). Es necesario poner en evidencia la pro-ducción de toxina diftérica para poder identificar una cepa como toxigénica (prueba de Elek).

Otros bacilos Gram positivos

Listeria monocytogenes: es un bacilo Gram positivo, catalasa positiva, móvil con cuatro flagelos a 25°C e inmóvil a 37°C, esculina positiva, beta-hemolítico. Se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, sobrevive bien al frío. Se lo aisló de leche vacuna y derivados. Es el agente etiológico de la listeriosis. La infección puede adquirirse a través de la ingesta de leche y derivados (no pasteurizados), o por vía transplacentaria cuando existe una portación de Listeria monocytogenes en el tracto gastrointestinal. Existe la posibilidad de adquirir la infección a través del canal del parto. La listeriosis se caracteriza por un cuadro de meningitis y sepsis en recién nacidos.

Esporulados

Bacilus cereus: bacilo Gram positivo, esporulado, aerobio, móvil y no capsulado. Es un microorganismo ubicuo presente en el medio ambiente (suelo, depósitos de aguas dulces y saladas), por lo que es fácil que ingrese por vía digestiva a través de infinidad de alimentos (arroz, carnes y verduras). La infección se adquiere tanto por la ingesta del microorganismo como por la ingesta de la toxina. Presenta dos toxinas una termoestable (forma emética relacionada con la ingesta de arroz) y otra termolábil (forma diarreica). Como la colonización de la materia fecal es común con este agente, el aislamiento en seres humanos de materia fecal no presenta utilidad diagnóstica. El diagnóstico debe realizarse por aislamiento del agente en el alimento contaminado.

Bacillus anthracis: es un bacilo Gram positivo ubicuo en la naturaleza, esporulado, inmóvil, capsulado. Crece bien en medios comunes presentando colonias caracterísi-cas en cabeza de medusa. Los factores de virulencia son la cápsula con función antifagocitaria, la exotoxina (plasmídica) con tres componentes: el factor de edema, el factor letal y el antígeno protector. Estos factores deben estar juntos para producir los efectos tóxicos. La toxina actúa en piel y en pulmón. Produce una antropozoonosis denominada carbunco. El hombre es un huésped accidental y adquiere la infección cuando las esporas del bacilo penetran por abrasiones cutáneas o por vía inhalatoria (enfermedad profesional: veterinarios, faenadores, matarifes). En la actualidad ha adquirido un valor relevante por su posible utilidad como arma biológica (bioterrorismo). Las esporas de algunas especies del género Bacillus (B. subtilis y B. stearothermophi-lus) se utilizan para controles biológicos de los sistemas de esterilización.

Bacilos Gram Negativos

Género Haemophilus

Son bacilos Gram negativos pequeños, en ocasiones pleomorfos que se encuentran en las mucosas de los hombres y los animales. Su nombre etimológicamente proviene del griego (hemofilia) que significa “amante de la sangre”.

Haemophilus influenzae: es un bacilo pequeño Gram negativo, inmóvil, no esporulado, pleomórfico, microaerófilo. Su crecimiento óptimo se obtiene incubando las placas en microaerofilia (5-10% de CO2). Es una bacteria fastidiosas que necesita para su de-sarrollo de medios enriquecidos (agar chocolate) con factores nutricionales (factor X: hemina y factor

V: NAD). Existen cepas capsuladas y no capsuladas. Habita la faringe como microbiota transitoria. Las cepas capsuladas son las responsables de las enfermedades infecciosas. La presencia de cápsula hace que este microorganismo pueda serotipificarse: serotipos: a, b, c, d, e, f. El serotipo b es el más frecuente. Produce: otitis media, sinusitis, neumonía, meningitis, epiglotitis del lactante y el niño. En la actualidad estas enfermedades pueden prevenirse ya que existe una vacuna contra esta bacteria.

Haemophilus ducreyii: es un bacilo Gram negativo, microaerófilo. En las muestras clínicas (exudado del chancro) aparece en cadenas de coloración bipolar. El medio de cultivo principal es agar sangre de conejo donde se observan colonias hemolíticas y solamente requiere el factor X.

Otros bacilos Gram negativos

Legionella pneumophila: es un bacilo Gram negativo que se tiñe poco con la coloración de Gram. Se puede utilizar la inmunofluorescencia directa en la muestra de esputo. Posee requerimientos especiales para su cultivo en el laboratorio. Causa la enfermedad de los Legionarios que es una neumonía atípica. Debido a que se trata de un saprófito ambiental se adquiere por inhalación de aerosoles de sistemas de aire acondicionado y torres de refrigeración. El diagnóstico se establece, la mayoría de las veces, por la detección de anticuerpos que por técnicas de cultivo.

Vibrio spp.: bacilos Gram negativos, pertenecientes a la flia. Vibrionaceae junto con Plesiomonas spp. y Aeromonas spp.. Existen diferentes especies dentro del género Vibrio. Se diferencian de la flia. Enterobacteriaceae por la prueba de la oxidasa positiva y por no fermentar la glucosa.

Vibrio cholerae: es la especie más estudiada del género. Su constitución molecular hace que se la pueda clasificar en serogrupos, biotipos y serotipos. Los serogrupos dependen del Ag O del LPS de la pared. Existen 6 serogrupos diferentes: O1, O2, O3, O4; O5 y O6. Sólo el serogrupo O1 se relaciona con el cólera. Los biotipos dependen de las propiedades bioquímicas. Dentro del serogrupo O1 se encuentran dos subespecies de vibrio cholerae: v. cholerae clásico y v. cholerae El Tor. Se diferencian entre sí porque éste último es beta hemolítico y resistente a la polimixina. Los serotipos dependen de la presencia de proteínas de membrana externa. Existen tres tipos de proteínas de ME: A, B, C, De la combinación de éstas surgen 3 serotipos diferentes: Ogawa (AB), Inaba (AC) e Hikojima (ABC). Estas clasificaciones sirven a los fines epidemiológicos. Así sabemos que la cepa de Vibrio cholerae que fue introducida al Perú en 1992 es Vibrio cholerae O1 El Tor, Ogawa-Inaba.
La acción patógena se debe a la eliminación de una exotoxina en la luz intestinal que activa a la adenilciclasa produciendo cambios citotónicos en el enterocito. La estructura de la toxina colérica es similar a la de ETEC.
El diagnóstico se realiza por aislamiento en medios selectivos (TCBS: tiosulfato, citrato, sales biliares y sacarosa). La identificación completa necesita de pruebas bioquímicas y serológicas.
La infección se adquiere a través del agua contaminada y los alimentos contaminados (peces y frutos de mar).

Campylobacter jejuni: bacilo Gram negativo curvo, fino (forma de gaviota). Se mueve mediante flagelos polares. Es microaerófilo y no utiliza los hidratos de carbono. Presenta reservorios animales, se adquiere por ingesta de alimentos y leche contami-nados (no se multiplican en estos vehículos). Es raro el contagio persona-persona. Produce diarreas e invasión del torrente sanguíneo (bacteriemia). Requiere medios enriquecidos con 10% de CO2 (cadnofilia). Crece mejor a 42ºC.

Familia Enterobacteriaceae
Son bacilos Gram negativos aerobios-anaerobios facultativos. Son los más numerosos de la microbiota normal intestinal encontrándose en las heces aproximadamente 109 por gramo. Los géneros de esta familia comparten características que los distinguen de otras familias y se pueden diferenciar entre sí por pruebas bioquímicas. Un bacilo Gram negativo para ser considerado Enterobacteria debe ser: oxidasa negativa, reducir nitratos a nitritos y fermentador de glucosa.
Dentro de esta gran familia los géneros más importantes son:
Género Escherichia
Género Proteus
Género Klebsiella
Género Enterobacter
Género Salmonella

Género Shigella
Género Yersinia

Escherichia coli: bacilo Gram negativo móvil, puede o no poseer cápsula. Crece con facilidad en medios de laboratorio de rutina (agar nutritivo, CLED, agar sangre, EMB), fermenta la lactosa. Produce infecciones del tracto urinario, diarreas y meningitis neonatal. El hábitat normal es el intestino del hombre y los animales. Puede colonizar vagina y uretra anterior. Posee antígenos O (somático), H (flagelar), K (capsular) y F (fimbrias), que se pueden usar para caracterizar las cepas mediante serotipificación. Se han identificado algunos factores de virulencia que juegan un rol importante en la patogenia de las distintas infecciones que produce:

· endotoxina (lípido A de la membrana externa de la pared celular) que se encuentra en todas las cepas
· adhesinas (Ej: fimbrias P asociadas con ITU)
· cápsula que se asocia con adherencia, importante en las meningitis neonatales y en pielonefritis. (E. coli tipo capsular K1).
· enterotoxinas (asociadas a diarreas)

Se deben recordar los cinco virutipos (cepas virulentas) productoras de diarreas y toxiinfecciones alimentarias: ETEC (enterotoxigénica), EPEC (enteropatógena), EHEC (enterohemorrágica), EAEC (enteroadherente), EI EC (enteroinvasiva).

Género Proteus: tiene varias especies, sólo dos de importancia médica: P. mirabilis y P. vulgaris. Son bacilos Gram negativos, muy móviles (swarming: característica que se observa en algunos medios de cultivo), que prefieren pH alcalinos (> 7), no fermentan la lactosa y producen ureasa. Las especies se pueden distinguir mediante la prueba de indol: P. mirabilis indol negativo y P. vulgaris indol positivo. El hábitat normal lo constituye el intestino humano. La infección por lo tanto es endógena. Los factores de virulencia son la ureasa, la endotoxina y los flagelos. Otros géneros que comparten características similares al género Proteus, considerados como agentes etiológicos de ITU son los géneros Morganella y Providencia.

Géneros Klebsiella y Enterobacter: son bacilos Gram negativos. El género Klebsiella posee una gran cápsula y es inmóvil. La especie más importante es Klebsiella pneumoniae, agente etiológico frecuente de ITU y neumonías nosocomiales. Puede ser difícil distinguir entre colonización e infección. El hábitat natural lo constituye el intestino humano y la infección puede ser endógena. Los factores de virulencia más importantes lo constituyen la endotoxina y la cápsula.
El género Enterobacter presenta dos especies de importancia clínica: E. aerogenes y E. cloacae. Son agentes etiológicos frecuentes de infecciones intrahospitalarias de tracto respiratorio inferior, tracto urinario y bacteriemias a punto de partida de soluciones parenterales.

Salmonella spp. y Shigella spp.: a diferencia de otros miembros de la flia. Enterobacteriaceae (oxidasa negativa, fermentadores de glucosa y reductores de nitratos a nitritos) no son habitantes normales del intestino humano (excepto en portadores después de la infección). Ambos géneros producen diarreas que pueden ser graves.

Salmonella spp.: se han identificado infinidad de especies en base a pruebas serológicas. Las salmonelas se dividen en dos grandes grupos: aquellas que producen fiebre tifoidea (Salmonella typhi, Salmonella paratyphi A y B) y las productoras de diarreas (salmonelosis) representadas por Salmonella enteritidis y otros muchos serotipos.
Son bacilos Gram negativos, móviles, no esporulados. Todos excepto Salmonella typhi carecen de cápsula y son aerobios y anaerobios facultativos. Se encuentran en ani-males (mamíferos y aves) y en sus productos (huevos, carne, leche y crema). Se adquieren por ingesta de alimentos contaminados o por vía fecal-oral de un paciente enfermo o un portador. Salmonella typhi sólo es patógena para el hombre.

Shigella spp.: son bacilos Gram negativos, no capsulados, inmóviles, aerobios, anae-robios facultativos. Existen cuatro especies de importancia para el hombre como causa de disentería bacilar: Shigella dysenteriae (OA) , Shigella flexneri (OB), Shigella boydii (OC), Shigella sonnei (OD). Son netamente patógenos humanos que se diseminan en bajo inóculo por vía fecal-oral (no atraviesa la lámina propia). El reservorio único es el hombre.

Yersinia enterocolitica: es un bacilo Gram negativo, no esporulado, aerobio y anaerobio facultativo. Producen en animales cuadros clínicos denominados

yersiniosis y en el hombre, que se infecta en forma accidental, cuadros de localización fundamentalmente intestinal. En Argentina aún no se han aislado cepas de Yersinia enterocolitica en muestras clínicas humanas.

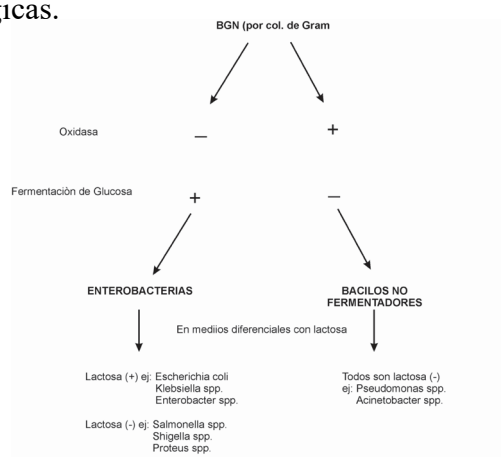
Bacilos Gram negativos No Fermentadores (BNF)

Pseudomonas aeruginosa: bacilo Gram negativo, móvil, aerobio estricto que no fermenta glucosa y es oxidasa positiva (bacilo Gram negativo no fermentador). Produce pigmentos: piocianina (responsable del característico "pus azul"), pioverdina, piomelanina, piorrubina y carotenos. Presenta un antígeno O (somático), un antígeno H (flagelar) y un antígeno M (mucoide o glicocálix: mucus extracelular similar a una cápsula). Sus factores de virulencia más importantes son: el glicocálix, los pilis, la endotoxina (LPS), las exotoxinas (toxina A, enterotoxina y toxina eritrodérmica), las bacteriocinas (piocinas), enzimas y hemolisinas. Se encuentra en el medio ambiente, como microbiota normal transitoria de piel y en reservorios húmedos en el ambiente hospitalario. Presenta gran resistencia a los antibióticos y antisépticos (donde puede desarrollar). Se la considera patógeno oportunista produciendo principalmente infecciones en el paciente hospitalizado y en el huésped inmunocomprometido. Puede afectar cualquier tejido o sitio corporal produciendo: otitis externa (otitis del nadador o de la pileta), endocarditis, bacteriemias, infecciones de quemaduras, infecciones pulmonares (en pacientes con fibrosis quística), infecciones del tracto urinario (pacientes sondados preferentemente).

Moraxella catarrhalis: es un cocobacilo Gram negativo morfológicamente similar a Neiserria spp., pero con menores requerimientos de cultivo. Forma parte de la flora transitoria faríngea. Produce infecciones respiratorias de las vías aéreas superior e inferior (sinusitis, otitis, neumonía) e infecciones que comprometen la vida del paciente (meningitis, endocarditis)

Acinetobacter spp.: el género Acinetobacter está representado por cocobacilos Gram negativos, oxidasa negativa, inmóviles y no fermentadores. Las especies del género están ampliamente distribuidas en la naturaleza y en el ambiente hospitalario. Puede encontrarse en la piel de seres humanos sanos. Es el segundo bacilo Gram negativo no fermentador, después de Pseudomonas aeruginosa, aislado de patología humana, especialmente de infecciones intrahospitalarias. Las especies más frecuentes son: Complejo A. baumannii-calcoaceticus A. lwo ffii, A. haemolyticus. Son considerados como no patógenos para individuos inmunocompetentes pero causa infecciones en personas inmunocomprometidas. Se ha observado que el tracto gastrointestinal de los pacientes hospitalizados es un sitio frecuente de colonización por A. baumannii, cons-tituye un reservorio importante para los brotes de infecciones intrahospitalarias. Las infecciones intrahospitalarias que produce son: infecciones del tracto respiratorio inferior (tubos endotraqueales y traqueostomía), infecciones urinarias y de heridas a partir de las cuales puede producir bacteriemia.

Brucella spp: son cocobacilos Gram negativos, intracelulares, crecen lentamente y requieren de medios de cultivo especiales (bacterias fastidiosas) por ejemplo sistemas bifásicos como el medio de Ruiz-Castañeda. Necesitan un 10% de CO2 para su desarrollo. Existen varias especies de Brucella. Producen una antropozoonosis denomi¬nada brucelosis. Cada especie se relaciona con una especie animal: B. abortus (ganado vacuno), B. melitensis (ganado caprino), B. suis (ganado porcino), B. canis (perros).
La infección en el hombre se adquiere por vía digestiva (leche contaminada y sus deri-vados), cutánea (trabajadores rurales y veterinarios) o respiratoria (esquila y personal de laboratorio). Produce un síndrome febril prolongado con fiebres ondulantes, escalofríos y mioartralgias. Posee dos fases una fase aguda donde el diagnóstico se realiza por hemocultivos y una fase crónica donde el diagnóstico se basa en pruebas serológicas.



Algoritmo de identificación frente al desarrollo aeróbico de bacilos Gram negati-vos que pueden crecer en distintos medios de cultivos ya sea agar sangre, CLED o EMB

Espiroquetas

Género Treponema

El género Treponema pertenece a la flia. Spirochaetaceae. Incluye cuatro treponemas patógenos (antiguamente llamados no cultivables) y al menos seis treponemas no patógenos (cultivables). Los treponemas patógenos son: Treponema pallidum subespecie pallidum (productor de la sífilis), Treponema pallidum subespecie endemicum (productor de la sífilis endémica), Treponema pallidum subespecie pertenue (productor del pian), Treponema carateum (productor de la pinta, que permanece como especie separada).
Los treponemas patógenas son morfológicamente idénticos y presentan más de 95% de homología en su ADN por hibridación.

Existen otras espiroquetas asociadas a huéspedes humanos distintas a Treponema pallidum que son anaerobias y parasitan al hombre. Incluyen espiroquetas de la cavidad oral, de las secreciones sebáceas de la región genital y del tracto intestinal (colon y recto). Son considerados treponemas saprófitos, pudiendo producir infecciones como: gingivitis, enfermedad periodontal. Tres ejemplos son: T. denticola (boca), T. phagedensis (secreciones genitales) y Serpulena spp. (materia fecal).
Treponema pallidum subespecie pallidum: es una espiroqueta microaerófila con 6 a 14 espiras regulares y extremos aguzados. Presenta una movilidad característica debido a la acción de flagelos insertados en ambos extremos que se extienden por debajo de la pared celular. Se describen movimientos de flexión, rotación sobre su eje y traslación.
Su constitución antigénica es extraordinariamente compleja. Los antígenos más impor-tantes son: antígeno proteico específico de grupo, antígenos proteicos específicos de treponemas patógenos y antígenos polisacáridos específicos de treponemas patógenos.
Recordar que no existen medios de cultivo convencionales y que las cepas patógenas se pueden mantener viables en medios de cultivo celulares o tisulares (testículo de conejo).
Es un parásito obligado humano y no se conoce reservorio animal o ambiental. La enfermedad presenta una distribución universal. El microorganismo se adquiere por vía sexual, trasplacentaria o transfusional.

Género Leptospira

El género está representado por espiroquetas con curvas regulares y extremo terminados en ganchos, móviles en forma de latigazo. El microorganismo está presente en la sangre en la fase aguda, durante la primera semana de la enfermedad. Posee dos especies importantes: L. interrogans y L. biflexa. La primera es parasitaria y la última posee subespecies de vida libre. Leptospira interrogans produce una antropozoonosis conocida como leptospirosis o enfermedad de Weil. Es transmitida desde roedores, murciélagos, vacas, ovejas, cabras y otros animales domésticos (las leptospiras excretadas en la orina contaminan el alimento y el agua). Desarrolla añadiendo de 1 a 3 gotas de sangre fresca del paciente a 5 ml del medio de Stuart o a los medios semisólidos de Fletcher o Ellinghausen. Previamente a la inoculación de la sangre se añade suero fresco de conejo a una concentración del 14%. La incubación se hace en oscuridad, a 30ºC durante 28 días. Se examina una vez a la semana en campo oscuro una parte del cultivo para la observación de las formas espiroquetales y su movilidad. El examen directo de la sangre en campo oscuro no es recomendable ya que pueden confundirse restos de hematíes con Leptospira spp.
Ante la sospecha de leptospirosis es aconsejable determinar la presencia de anticuerpos específicos.

Bacterias especiales

Géneros Chlamydia

Son bacterias especiales que se comportan como parásitos intracelulares obligados, ya que requieren del material energético de una célula para subsistir.
El ciclo de replicación abarca dos formas del microorganismo: una forma infectante pequeña y resistente que se denomina cuerpo elemental y una forma intracelular frágil, de mayor tamaño, metabólicamente activa, no infectante; que se denomina cuerpo reticulado. La principal diferencia entre el cuerpo elemental y el cuerpo reticulado es la configuración de la proteína mayor de la membrana exterior (MOMP), en el cuerpo elemental estas forman polímeros y se encuentran muy unidas entre sí por enlaces disulfuro. El ciclo comienza cuando el cuerpo elemental se fija a células susceptibles, luego ingresa a la célula en una vacuola endocítica y comienza su conversión a cuerpo reticulado. El cuerpo reticulado se multiplica por fisión binaria y se forma un gran cuerpo de inclusión (visible en Chlamydia trachomatis al microscopio con coloración de yodo, por la presencia de glucógeno). Luego de 24 a 72 horas el cuerpo reticulado

se reorganiza en cuerpo elemental. La membrana de la vacuola se fusiona con la membrana celular y el contenido es eliminado al exterior por lisis celular, reiniciando el ciclo infectivo.
Las especies que producen patología humana son: Chlamydia trachomatis, Chlamydia psittaci y Chlamydia pneumoniae.

Especies	Serotipo	Huésped natural	Modo de transmisión	Enfermedad en humanos
C trachomatis	A, B, Ba, C	Hombre	Mano a ojo, fomites y en moscas	Tracoma
	D-K	Hombre	Sexual, durante el parto, contacto con secreciones infecta- das	Infecciòn genital, conjuntivitis de inclusiòn y neumonìa atipica en el neonato
	L1, L2, L2a, L3	Hombre	Sexual	Linfogranuloma venereo
C psittaci	Numerosos	Aves, aves de corral	Aerosoles (vía respiratoria)	Psitacosis
C pneumoniae	1 serotipo TWAR	Hombre	Respiratoria	Neumonía, bronquitis

Chlamydia psittaci: bacteria que se comporta como parásito intracelular obligado perteneciente a la clase de los Chlamydiales. Agente etiológico de una antropozoonosis (enfermedad que afecta a los animales y accidentalmente es adquirida por el hombre) denominada Psitacosis. Las que padecen la enfermedad son las aves del orden de los psitácidos (aves de pico duro y curvo); loros, cacatúas, tucanes. La forma infectante de la bacteria (corpúsculo elemental) es eliminada con la materia fecal de estas aves (cuadro clínico caracterizado por diarrea) e ingresa a las vías aéreas inferiores del hombre por inhalación. Cuando la patología afecta a otros grupos de aves (pavos, gan-sos, gallinas) se denomina Ornitosis. Contiene antígenos de superficie específicos que permiten la detección con anticuerpos inmunofluorescentes.

Chlamydia pneumoniae: reconocida mundialmente en 1983, esta bacteria; parásito intracelular obligado, fue denominada cepa TWAR. Posteriormente se supo que se trataba de una nueva especie del género Chlamydia. Se encuentra formando parte de la flora transitoria de la faringe. Se reconoce actualmente como agente etiológico de infecciones respiratorias bajas y se le asigna una participación importante en el infarto agudo de miocardio. Deben realizarse cultivos celulares para poder aislarla. Sólo puede detectarse en la actualidad por serología.

Chlamydia trachomatis: es una bacteria que se comporta como parásito intracelular obligado, inmóvil y posee una pared celular similar en estructura a la pared de las bac-terias Gram negativas.
Presenta antígenos específicos de género, de especie y tipo-específicos que sirven para el diagnóstico. Los antígenos específicos de género son los LPS. Las proteínas de mem-brana externa contienen tanto antígenos específicos de especie como tipo-específicos.
Estos son los responsables de la reacción de Inmunofluorescencia que se utiliza para identificar los serovariedades de Chlamydia trachomatis. En la actualidad las técnicas de amplificación de los ácidos nucleicos (hibridación o RCP) son útiles para el diagnóstico.
Epidemiología (distribución, reservorios, susceptibilidad
C. trachomatis infecta conjuntivas y tracto genital. Es una infección de transmisión sexual frecuente. Posee diferentes serotipos que se relacionan con distintos cuadros clínicos La conjuntivitis neonatal es una enfermedad frecuente y se produce como resultado del contacto directo con las secreciones cervicales de la madre durante el parto. Otra enfermedad, el tracoma (conjuntivitis folicular crónica) es una causa importante de ceguera. El niño se infecta durante la lactancia a partir de la madre infectada por contacto con sus secreciones o con fomites contaminados. La infección genital produce uretritis y cervicitis.

Patogénesis
Las clamidias tienen tropismo por las células epiteliales del endocérvix y las vías genitales superiores, uretra, recto, conjuntivas. Una vez establecida la infección se produce un proceso inflamatorio mediado por los lipopolisacáridos con infiltrado linfoplasmocitario y polimorfonucleares. La infección puede adoptar un curso persistente. Si la infección progresa aparece fibrosis y retracción cicatrizal. Las cicatrizaciones en con-juntivas causan deformidades de los párpados y pestañas, con abrasión crónica de la córnea y ceguera en la edad adulta. El tracoma es una enfermedad endémica de la niñez de algunos países en desarrollo.

Diagnóstico microbiológico

El diagnóstico de Chlamydia trachomatis se basa en los métodos directos: aislamiento en cultivos celulares, inmunoensayo óptico y RCP. Los métodos serológicos en C. trachomatis tienen poca aplicación.
El diagnóstico de C. psittaci y de C. pneumoniae, en cambio, es un diagnóstico serológico.

Mycoplasma spp. y Ureaplasma spp.

Género Mycoplasma
La flia. Mycoplasmataceae presenta dos géneros patógenos humanos: Mycoplasma y Ureaplasma. Mycoplasma hominis y Ureaplasma urealyticum son las dos especies ais-ladas del tracto genital que están relacionadas con la producción de enfermedades, mientras que Mycoplasma pneumoniae está relacionado a infecciones de las vías aéreas inferiores.

Mycoplasma pneumoniae: bacteria del orden de los Mollicutes (cutis blando) pues no posee pared celular. Produce infecciones respiratorias bajas de la comunidad en individuos jóvenes. El diagnóstico de la infección se basa en la serología debido a las dificultades del cultivo. No existen técnicas de visualización del microorganismo. La transmisión de Mycoplasma pneumoniae se hace de persona a persona a través de las vías aéreas desde un individuo portador sano a través de las gotitas de Phlügge. Las adhesinas proteínicas superficiales de la bacteria se unen a receptores sialoglucolipídicos en el epitelio respiratorio del huésped.

Mycoplasma hominis y Ureaplasma urealyticum: son los microorganismos más pequeños capaces de reproducirse libremente. No poseen pared celular. Requieren de esteroles (suero de caballo) para su desarrollo en medios de cultivo. Forman parte de la microbiota normal de los tractos genital y respiratorio.
Pueden producir uretritis no gonocócica y uretritis post-gonocócica. M. hominis se aísla de EPI, pielonefritis, artritis séptica, fiebre post-parto, meningitis y bacteriemia neonatal. U. urealyticum se aisla de síndrome uretral femenino, artritis séptica, corioamnionitis, ruptura prematura de membranas y meningitis, bacteriemias y neumonías neonatales.
El diagnóstico definitivo se realiza por aislamiento del microorganismo en medios de cultivo especiales.
Micobacterias y otros bacilos parcialmente ácido-alcohol resistentes

Género Mycobacterium

Las micobacterias están distribuidas en el medioambiente y en los animales. Los principales agentes patógenos humanos son: el Complejo Tuberculosis (ver capítulo de infecciones respiratorias bajas) y Mycobacterium leprae, pero otras especies han cobrado importancia clínica con el advenimiento del VIH/SIDA. Estas especies se conocen con el nombre de micobacterias medioambientales potencialmente patógenas (MMPPo PPEM).
Son bacilos aerobios, con pared celular de bacterias Gram positivas que se tiñen con dificultad con la coloración de Gram por lo que requieren de otras técnicas tintoriales (Ziehl-Neelsen). Son de crecimiento lento. Todas las especies pueden crecer en medios de cultivo artificiales excepto M. leprae. Son parásitos intracelulares que sobreviven dentro del macrófago produciendo enfermedades crónicas de desarrollo lento en las que la mayor parte de las alteraciones patológicas se deben a la respuesta inmune del huésped y no a una toxicidad bacteriana directa.
Existe vacuna para la tuberculosis. Se denomina BCG (bacilo de Calmette-Guèrin) que protege contra las formas diseminadas de la enfermedad (meningitis tuberculosa).

Mycobacterium leprae: bacilo ácido-alcohol-resistente que pertenece a la flia. Mycobacteriaceae. Es de crecimiento lento, aerobio y necesita temperaturas de 33° C para sobrevivir. Produce una enfermedad sistémica que afecta especialmente la piel y los nervios periféricos, cosmopolita y ampliamente distribuida en el mundo: la lepra. El diagnóstico se hace por la observación directa del microorganismo con la coloración de Ziehl-Neelsen de muestras provenientes de tabique nasal, lóbulo de la oreja y lesiones cutáneas, siempre que se trate de la forma clínica más severa (lepra lepromatosa). No se cultiva en medios artificiales pero puede desarrollar en la almohadilla plantar del ratón blanco o el armadillo.

Género Actinomyces
Aunque en el pasado se las consideraba hongos son bacterias verdaderas. Su pared celular es semejante a la de las micobacterias y corinebacterias. Algunos son ácido-resistentes. Este género posee muchas especies, algunas de las cuales son importantes patógenas humanas y de los animales. Actinomyces israelii

causa principalmente la actinomicosis.
Actinomyces israelii: bacilo Gram positivo, ramificado, filamentoso, anaerobio, no esporulado y no ácido-resistente. Es parte de la flora normal de la boca, el intestino y la vagina. Produce infecciones endógenas, no existe la transmisión de persona-persona. La actinomicosis sigue a un traumatismo local caracterizándose por nódulos duros, indolorosos que eliminan pus a través de fistulizaciones. Las formas clínicas son: cervico-facial (la más frecuente), la abdominal y la infección relacionada con dispositivo intrauterino (DIU). El pus se presenta normalmente con la característica de gránulos de azufre compuestos de una masa de filamentos bacterianos. Al examen directo por coloración de Gram se observan los bacilos dentro de estos gránulos. Crecen bien en agar sangre, en atmósfera anaeróbica a 35°C después de 3 a 7 días de incubación.

Género Nocardia
Son bacilos Gram positivos en forma de filamentos ramificados finos, aerobios. Se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, especialmente el suelo. El patógeno humano más importante es N. asteroides. Otras especies también pueden causar enfermedad humana. Se adquiere a partir del suelo o por vía respiratoria. Produce una forma cutánea (actinomicetoma), una forma pulmonar que puede complicar a una forma meníngea. Esta infección es oportunista principalmente en pacientes inmunocomprometidos. La capacidad del microorganismo para sobrevivir a la respuesta inflamatoria del huésped le permite producir la infección. El diagnóstico se realiza por la coloración de Kinyoun, especial para bacilos parcialmente ácido-resistentes. El medio de cultivo es agar sangre y las colonias aparecen entre 2 y 10 días de incubación.

Rickettsias
Bacterias pequeñas que se comportan como parásitos intracelulares obligados. Producen infecciones transmitidas en su mayoría por vectores (garrapatas, moscas, ácaros y piojos) a excepción de Coxiella burnetti. Las enfermedades producidas por estos microorganismos son regionales y dependen de la presencia del vector y del reservorio (fiebre de las Montañas Rocallosas, fiebre del Mediterráneo, fiebres manchadas, tifus exantemáticos).

Coxiella burnetti: a diferencia de las demás rickettsias no es transmitida a los humanos por artrópodos, es relativamente resistente a la desecación, el calor y la luz solar y por lo tanto resulta suficientemente estable para contagiarse por vía aérea desde animales infectados (ovejas, cabras, vacas). Su principal lugar de acción es el pulmón. Produce la fiebre Q (de query: interrogación) que es un cuadro de neumonía atípica. La población más expuesta la constituyen los veterinarios, granjeros, trabajadores de los mataderos; debido a que es bastante común la infección del ganado (antropozoonosis). El diagnóstico se realiza por el aumento significativo de cuatro veces o más en el tipo de anticuerpos fijadores de complemento (seroconversión).

Bacterias anaerobias

Las bacterias anaerobias son aquellas que desarrollan en ausencia de O2, aunque existen algunas que lo hacen en presencia de cantidades mínimas. Están diseminadas en la naturaleza y constituyen la parte predominante de la microbiota normal en el hombre de todos los nichos ecológicos.
Este grupo de microorganismos está integrado por cocos, bacilos, tanto Gram positivos como Gram negativos:
Cocos Gram Positivos: Peptostreptococcus spp., Peptococcus niger
Cocos Gram negativos: Veillonella spp.
Bacilos Gram positivos: Clostridium spp., Actinomyces spp., Propionibacterium spp., Mobiluncus spp., Lactobacillus spp.
Bacilos Gram negativos: Bacteroides spp., Fusobacterium spp., Prevotella spp.
Se los considera como patógenos oportunistas endógenos. Intervienen en diferentes tipos de infecciones. La localización de la infección y las especies de anaerobios comprometidas están relacionadas con el hábitat endógeno (microbiota normal).

Producen: cuadros abdominales (abscesos, peritonitis), infecciones de las vías aéreas superiores (otitis media crónica, sinusitis crónica, abscesos periamigadalinos, abscesos periodontales, angina de Vincent o asociación fusoespirilar), infecciones de tejidos blandos (celulitis, gangrena gaseosa, fascitis necrotizante), infecciones ginecobstétricas (aborto séptico, endometritis, abscesos pélvico, vulvovaginal, tuboovárico; salpingitis, peritonitis), infecciones pleuropulmonares (neumonía, absceso pulmonar, empiema)

y septicemia.

Clostridium spp.: este género incluye muchas especies de bacilos Gram positivos, esporulados y anaerobios; unos pocos son aerotolerantes. Ampliamente distribuidos en el suelo y en el intestino del hombre y los animales. Las esporas son resistentes a las condiciones medioambientales. Las principales enfermedades asociadas con las especies del género son: gangrena, tétanos, botulismo, intoxicación alimentaria y colitis pseudomembranosa. En todas ellas la producción de potentes exotoxinas proteicas es la causa importante de enfermedad, y las toxinas de varias de las especies son trans-mitidas por plásmidos o bacteriófagos.

Clostridium perfringens: bacilo Gram positivo, anaerobio, esporulado e inmóvil. Produce 4 exotoxinas: alfa, beta, ypsilon e iota; que permiten clasificarlo en 5 tipos serológicos: A, B, C, D, E. El tipo A es el responsable de la mayoría de las infecciones humanas. Se encuentra diseminado en el suelo y como microbiota normal del hombre y los animales (tracto gastrointestinal). Es el agente causal de gangrena gaseosa, celulitis, fascitis y bacteriemia. Los tipos implicados en intoxicaciones alimentarias son el tipo A y el tipo C. El diagnóstico se realiza mediante la identificación de las toxinas.

Clostridium difficile: bacilo Gram positivo, anaerobio, esporulado y móvil. Es un com-ponente de la microbiota intestinal normal que puede proliferar bajo presión selectiva de los ATM. Produce una lesión de la pared intestinal mediada por las toxinas alfa y beta. Una de ellas es una citotoxina. La enfermedad se conoce con el nombre de colitis pseudomembranosa (diarrea asociada a antibióticos). Puede ser mortal especialmente en el huésped inmunocomprometido. Su diagnóstico se realiza mediante la detección de la toxina en la materia fecal de los pacientes, porque la simple presencia del microorga¬nismo no indica infección.

Clostridium tetani: bacilo Gram positivo, anaerobio estricto, esporulado. Presenta una espora terminal que le da el típico aspecto de palillo de tambor. Produce el tétanos. El tétanos es una enfermedad grave caracterizada por espasmos musculares tónicos e hiperreflexia, trismo, opistótonos y convulsiones. Se adquiere a través de heridas de la piel sucias con tierra (suelo contaminado). No existe transmisión de persona a persona. La enfermedad es debida a una neurotoxina (tetanospasmina) que produce el microorganismo en la herida. La toxina se une al receptor de gangliósidos e inhibe la liberación del neurotransmisor inhibidor glicina produciendo una parálisis rígida. El diagnóstico es clínico.

Clostridium botulinum: es un bacilo Gram positivo, anaerobio, esporulado. Produce las toxinas más potentes conocidas como venenos para el hombre. Existen diferentes cepas que producen diferentes toxinas desde el punto de vista inmunológico: A, B, C alfa, C beta, D, E y F. Las toxinas A, B y E se asocian a la enfermedad botulínica en seres humanos. El botulismo es una intoxicación alimentaria que se adquiera por la ingesta de la toxina preformada en ciertos alimentos (conservas caseras sin esterilizar, miel, jarabe de maíz). La toxina actúa en la unión neuromuscular inhibiendo la liberación de acetilcolina. El paciente presenta una parálisis fláccida y muerte por insuficiencia respiratoria. La forma de realizar el diagnóstico es detectar la toxina en el suero del paciente o en el alimento.

Bacteroides spp.: son bacilos Gram negativos pleomórficos. La especie B. fragilis pre-senta cápsula, que le confiere al microorganismo mayor virulencia y está íntimamente relacionada con la producción de abscesos. Se encuentra como microbiota normal principalmente a nivel colónico, y en pequeño número en el tracto genital femenino. Bacteroides fragilis es la especie más frecuentemente involucrada en patología humana asociándose sobre todo con infecciones intrabdominales y septicemia. Puede producir infecciones severas del tracto genital femenino (probablemente por acceso del microorganismo desde la región perineal) e infecciones pleuropulmonares. Su aislamiento es engorroso y requiere de técnicas de cultivo para bacterias anaerobias (jarra de anaerobiosis).

LOS AGENTES VIRALES

Familia Orthomyxoviridae

La familia Orthomyxoviridae abarca los virus Influenza A, Influenza B e Influenza C

Virus Influenza

Agente infeccioso

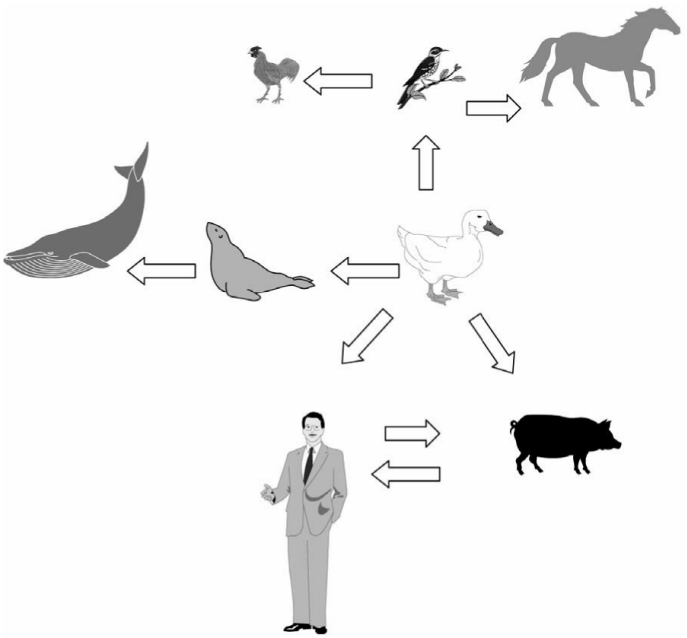
Se han identificado los tipos A, B y C de Virus Influenza. El tipo A incluye diferentes sub-tipos que han causado importantes epidemias y pandemias. El tipo B se ha detectado en epidemias regionales mientras que el tipo C guarda relación con brotes esporádicos. Los subtipos de influenza A se clasifican por los antígenos de dos glucoproteínas de superficie: la hemoaglutinina y la neuraminidasa. La mutación frecuente de los genes que codifican estas dos proteínas da lugar a nuevas variantes virales antigénicamente diferentes, que son las responsables de epidemias de gripe. Más aún es posible la recombinación de antígenos de cepas humanas y de porcinas o aviares dando lugar a un virus pandémico. Las aves acuáticas parecieran los principales reservorios de los Virus Influenza A, las que pueden transmitirlos a otros huéspedes tales como caballos, cerdos, aves de corral y mamíferos marinos. En algunos de estos hospederos susceptibles a Virus Influenza de diferentes especies puede ocurrir un mezclado de genes y originarse una nueva cepa de Virus Influenza A. En estos hospederos puede el nuevo virus producir epidemias o epizootias.

Es así que al Virus Influenza se le asignan variaciones menores y mayores. Las variaciones menores están originadas por mutaciones puntuales del ARN viral, que originan cambios en las secuencias de aminoácidos de las glucoproteínas hemoaglutinina y/o neuraminidasa. Estas variaciones menores ocurren en los virus Influenza A, B y C. Las variaciones mayores, descriptas únicamente para el Virus Influenza A, consisten en alteraciones drásticas de las proteínas de la superficie viral. Un mecanismo probable para este cambio es el entrecruzamiento o reordenamiento genético entre Virus Influenza A humano y otro Virus Influenza A no humano.

Epidemiología

La enfermedad se presenta en pandemias, epidemias, brotes localizados y en forma de casos esporádicos. Las pandemias fueron en 1889, 1918, 1957, 1968, 1977 y 2010. Los seres humanos son el reservorio para los virus que infectan humanos. Los reservorios mamíferos y aviarios, que participan del nicho ecológico, son fuentes probables de nuevas cepas humanas que pudieran surgir por recombinación genética.

El Virus Influenza que circula en la población humana es una causa importante de enfermedad respiratoria. El Virus Influenza A infecta una variedad de especies animales. Produce pérdidas de cerdos por infecciones respiratorias. La infección subclínica de aves acuáticas es un importante reservorio del Virus Influenza A. Las infecciones ocurridas en Asia en 1997-99 de los subtipos H5N1 y H9N2 demuestran el potencial de Virus Influenza aviario para atravesar las barreras de las especies e infectar humanos, aún cuando la transmisión de las aves a los humanos es un evento no frecuente. En contraste, la transmisión entre cerdos y humanos es un evento probable. Este es un aspecto importante pues el tracto respiratorio del cerdo contiene los receptores de ácido siálico para el Virus Influenza aviario e Influenza humano. De este modo los cerdos actúan como un vaso en el que se pueden mezclar los genes de Virus Influenza de diferentes especies animales, permitiendo la recombinación de los segmentos de ARN y la aparición de virus genéticamente nuevos con potencial pandémico. La recombina-ción entre el Virus Influenza aviario y el Virus Influenza humano produjo las pandemias de 1918, 1957 y 1968.



Nicho ecológico del Virus Influenza A: modificado de Horimoto y Kawaoka, Clin Microb Rev. 2001.

Patogénesis

La puerta de entrada es la vía respiratoria y las aglomeraciones de personas en la época invernal facilitan su transmisión.

Las células del epitelio respiratorio, en particular las ciliadas productoras de moco, durante la infección interrumpen la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos, producen enzimas hidrolíticas lisosómicas, entran en apoptosis, y finalmente se descaman. Esto produce

una interferencia notable con el mecanismo de limpieza de las vías respiratorias. Estas lesiones suelen permanecer hasta 10 semanas luego de la recuperación. Una reacción inflamatoria importante agrava la dificultad ya presente en la mecánica respiratoria. Finalmente la recuperación se inicia con la puesta en escena de la citoto-xicidad por los linfocitos T CD8 y una respuesta inmune humoral asociada a mucosas en la que el anticuerpo antihemoaglutinina produce el efecto neutralizante del virus. La complicación más importante de la infección es la superinfección bacteriana en la que pueden participan S. pneumoniae, H. influenzae y S. aureus. La muerte por Virus Influenza es producida por: a. la descompensación en enfermos cardiovasculares o respiratorios, b. la neumonía bacteriana, c. la neumonitis por Virus Influenza. La neu-monía viral primaria, es muy poco frecuente, sin embargo, la neumonía bacteriana secundaria es una causa importante de muerte en personas mayores de 65 años, en niños menores de dos años y en individuos inmunocomprometidos o con enfermeda-des crónicas (grupos de riesgo). La administración de aspirina en infecciones por Virus Influenza puede causar el Síndrome de Reye (encefalopatía).

Enfermedad

El virus Influenza es el agente etiológico de la gripe, que se caracteriza por fiebre alta, cefalalgia, mialgia, postración, coriza y tos. El período de incubación es de 18 a 70 hs. El paciente es contagioso desde un día antes del comienzo de los síntomas hasta 3 días después.

La influenza aviaria es una infección causada por un Virus Influenza A que infecta aves de corral como silvestres. Estas últimas llevan el virus en sus intestinos. Las aves infectadas eliminan el virus por saliva, secreciones nasales y heces. La transmisión entre las aves se produce por contacto directo o por la contaminación de aguas y otros mate-riales. La cepa H5N1 es una variante altamente contagiosa y mortal entre las aves y de gran poder patogénico en los humanos. La cepa influenza A aviaria no infecta usual-mente al hombre, aún cuando más de 170 casos confirmados han acontecido desde 1997. El hombre se infecta cuando está en contacto con aves domesticadas, pollos, pavos, patos, o bien con superficies contaminadas con sus secreciones. Existen formas poco patógenas y otras de alta virulencia. Los riesgos de influenza aviaria son: a. el contacto directo con el inóculo y la infección humana desde un reservorio aviario. b. el riesgo que una vez infectado el humano, la cepa se adapte y comience a circular entre persona a persona diseminándose con rapidez. La vacunación estacional para Virus Influenza no protege contra estas cepas.

Diagnóstico Microbiológico

El diagnóstico se realiza por métodos directos de detección de antígenos virales o aislamiento viral y su posterior caracterización serológica. Las muestras clínicas son el aspirado nasofaríngeo, hisopado faríngeo o nasal, lavado nasal. El aislamiento del virus se puede realizar en cultivos celulares o en huevos embrionados hasta 3 días después de iniciados los síntomas. La respuesta inmune es tardía, aparece entre los 10 y 14 días del comienzo de los síntomas y no suele utilizarse en el diagnóstico.

Prevención

Las cepas circulantes de Influenza A y B son los inmunógenos para la formulación de las vacunas a virus muerto. Está indicada la vacunación en los grupos de riesgo. La vacunación produce una inmunidad de corta duración (6 meses). Durante las epide¬mias con Virus Influenza A puede utilizarse la amantadina o rimantadina como quimio-profilaxis.

Familia Paramyxoviridae

Los integrantes de esta familia se transmiten por aerosoles y son causa importante de infecciones respiratorias altas y bajas.

Subfamilia	Género	Especies
Paramyxoviridae	Paramyxovirus Rábulavirus Morbil-libirus	Parainfluenza tipos 1 y 3 Parainfluenza tipos 2, 4a y 4b, parotiditis Sarampión
Pneumoviridae	Pneumovirus	Virus Respiratorio Sincicial

Virus Parainfluenza

Agente infeccioso

Se han reconocido los serotipos 1, 2, 3, 4 (este último 4a y 4b).

Epidemiología

Los Virus Parainfluenza producen infecciones respiratorias en recién nacidos, lactantes y niños. Tienen particular importancias los serotipos 1 y 3.

Patogénesis

Los epitelios de la faringe y de la nariz son los sitios iniciales de la replicación viral. La laringe y la tráquea pueden estar comprometidos en infecciones más extensas y producir el síndrome crup, donde la respuesta inmune del huésped parece contribuir a su patogénesis. El Virus Parainfluenza produce una infección aguda localizada que puede extenderse por el tracto respiratorio. En tal sentido, la respuesta inmune del huésped es poco eficiente para evitar las reinfecciones por el mismo serotipo.

Los diferentes serotipos producen infecciones respiratorias altas y bajas. En particular estos virus son la principal causa de crup o laringotraqueítis aguda.

Diagnóstico microbiológico

El diagnóstico se realiza por métodos directos. Las muestras clínicas para su aisla-miento son el aspirado nasofaríngeo y el hisopado faríngeo.

Virus Parotiditis

Agente infeccioso

El Virus Parotiditis es un Paramixovirus con un solo serotipo.

Epidemiología

El único reservorio del virus es el humano. El porcentaje de infecciones subclínicas llega al 30%. La frecuencia más elevada de infecciones se observa entre los 5 y los 15 años de edad.

Patogénesis

El virus ingresa por vía respiratoria o a través del contacto con fomites, alcanzando el tracto respiratorio alto. Desde allí tiene una fase virémica que le permite alcanzar sus órganos blancos: testículo, ovarios, SNC, ojo y parótida. Desde allí puede producirse una viremia secundaria. Es frecuente la viruria. El virus produce una infección aguda generalizada.

Enfermedad

Luego de un período de incubación de 15 días aparece fiebre y tumefacción de las glándulas salivales, en particular las parótidas. El virus puede alcanzar diversos órganos y tejidos produciendo meningitis, encefalitis, pancreatitis, ooforitis y orquitis. El paciente es contagioso desde 9 días antes hasta 8 días después del comienzo de la tumefacción. La orina se mantiene contagiosa hasta 15 días después.

Diagnóstico microbiológico

La muestra clínica de elección para el aislamiento es la saliva. Esta puede obtenerse desde 3 días antes del comienzo de los síntomas hasta 5 días después. Otras muestras de utilidad son el hisopado faríngeo, la orina y el LCR. Se realiza el diagnóstico serológico detectando IgM entre 1-5 días del comienzo de los síntomas manteniéndose hasta 6 meses después. La IgG es detectable transcurridos 7 días y permanece detectable por toda la vida del individuo.

Prevención

La prevención es mediante una vacuna con virus atenuados que se distribuye en com-binación con las vacunas contra rubéola y sarampión (MMR o Triple Viral). Las medi-das de control son el aislamiento del paciente y la desinfección de los objetos contaminados.

Es prevenible con la vacunación.

Virus Respiratorio Sincicial

Agente infeccioso

El virus pertenece al género Pneumovirus dentro de la familia Paramixoviridae. Existen al menos dos tipos antigénicos de Virus Respiratorio Sncicial: el A y el B.

Epidemiología

El virus produce brotes en la comunidad entre finales del otoño y el comienzo de la primavera. En el hogar los hermanos mayores son los que introducen el virus. Es común la reinfección. Los ancianos y los inmunodeprimidos son muy susceptibles a la reinfección y enfermedad respiratoria. El virus puede también diseminarse en los hospitales.

Patogénesis

Ingresa por vía respiratoria y conjuntival a través de aerosoles u objetos contaminados. Se disemina célula a célula a través de la expresión sobre las membranas celulares de proteínas virales de fusión viral que provocan la formación de sincicios celulares. Es una infección aguda localizada en la mucosa respiratoria. La bronquiolitis se produce por mecanismos de hipersensibilidad, por el depósito de inmunocomplejos en la luz bronquial, con activación del complemento; o bien por las citocinas inflamatorias liberadas durante el proceso. Pareciera que los individuos que reaccionan a la infección con una respuesta T helper 2, expe-

rimentan una enfermedad más grave. Los niños con bronquiolitis severas suelen luego enfermar de asma. La infección avanza por la mucosa respiratoria pudiendo llegar a los alvéolos.

Enfermedad
Es un importante patógeno productor de infecciones respiratorias en niños pequeños, tanto por su frecuencia como por su gravedad. Es la causa más frecuente de bron-quiolitis (50%) y neumonías atípicas (25%) en niños menores de un año.

Diagnóstico microbiológico
El diagnóstico se realiza mediante la detección de antígenos virales, aislamiento o detección de ácidos nucleicos en muestras de aspirado nasofaríngeo. La búsqueda del agente se realiza hasta 3 días del comienzo de los síntomas. La inoculación produce en las células susceptibles la formación de sincicios celulares. La serología no suele utilizarse en el diagnóstico por su aparición tardía: 10 días después del comienzo de los síntomas.

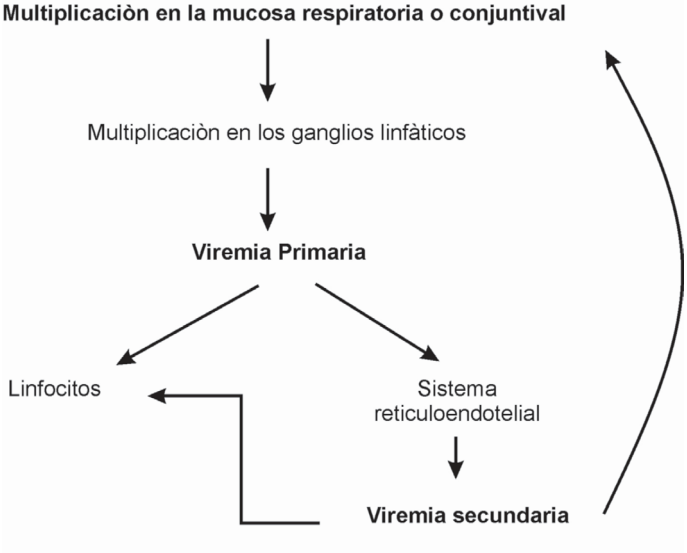
Prevención
Las medidas preventivas son el lavado de manos entre los contactos con los pacientes y el aislamiento. La ribavirina en aerosol podría ser eficaz para su tratamiento.

Virus Sarampión

Agente infeccioso
Pertenece a la Familia Paramixoviridae, género Morbillivirus, está emparentado con el virus Distemper Canino (Virus del Moquillo). Contiene ARN de sentido negativo que codifica para proteínas estructurales. Las que se encuentran en la envoltura viral son la proteína de matriz (M), con una función clave en el ensamblaje viral, la hemoaglutinina, que permite la adsorción a la superficie celular y, finalmente, la proteína de fusión (F) que media la fusión celular y produce el efecto citopático característico (sincicios celulares). El receptor celular es la proteína CD46, que regula la actividad del comple-mento. Sólo se conoce un serotipo.

Epidemiología
El único reservorio del Virus Sarampión es el hombre. Existe un solo serotipo que luego de la infección deja inmunidad permanente. Es una infección muy contagiosa, que siempre produce clínica. El período de incubación varía entre 7 a 18 días, y el período de transmisibilidad varía desde un día antes del período prodrómico hasta cuatro días después de aparecida la erupción.

Patogénesis
La puerta de entrada es respiratoria y conjuntival. El virus puede ingresar también por contacto de la mucosa respiratoria con secreciones infectadas. Los mecanismos de transmisión son por vía respiratoria y fomites contaminados.
La replicación comienza en el tracto respiratorio, las células susceptibles se fusionan como resultado de la actividad viral formando sincicios celulares y el citoesqueleto se desintegra. El virus se multiplica en los ganglios linfáticos. La infección se generaliza por vía sanguínea y linfática y el virus infecta linfocitos T y B y las células del sistema retículoendotelial, produciendo una intensa inmunodepresión. El virus deprime la síntesis de interleuquina 12 en las células macrofágicas así como la síntesis de inmunoglobulinas, lo que explica la susceptibilidad incrementada de estos pacientes a superinfecciones bacterianas. Desde estas células del sistema inmune vuelve a producir una viremia secundaria que ubica al virus nuevamente en el tracto respiratorio y mucosa conjuntival.



Enfermedad
El sarampión es una enfermedad infecciosa aguda grave caracterizada por el triple catarro (conjuntivitis, rinitis, bronquitis) enantema y exantema característico. El período de incubación es de 8 a 12 días. El paciente es contagioso desde 2 días antes de la clínica respiratoria hasta 4 días después de la aparición del exantema. La enfermedad grave se observa en pa-

cientes inmunodeprimidos y en desnutridos. Las superinfecciones bacterianas son otitis media, mastoiditis, sinusitis, neumonía y sepsis. El sarampión es una enfermedad grave en los niños de corta edad, en los desnutridos y en los niños con hipovitaminosis A. Las tasas de letalidad en países en desarrollo varían entre el 3 y el 20%. En estos grupos el sarampión a menudo desencadena kwashiorkor aguda, ceguera, deshidratación, diarrea, enteropatía con pérdida de proteínas.
El virus además puede producir diferentes patologías en el sistema nervioso central tales como encefalitis aguda postinfecciosa, encefalitis sarampionosa subaguda y panencefal itis esclerosante subaguda.
La encefalitis aguda postinfecciosa, se produce en 1:1000 casos de sarampión, y aparece en la primera semana del exantema. En el sistema nervioso central no se detecta virus y la enfermedad se produce como consecuencia de una reacción inmune contra las proteínas de la mielina. Es una desmielinización autoinmune. Esta enfermedad es el principal motivo de la vacunación en países del primer mundo.
La encefalitis sarampionosa subaguda se observa en inmunocomprometidos como consecuencia de un déficit en la respuesta celular. Aparece dentro de los 6 meses de producido el exantema y es de carácter progresiva. Es posible detectar antígenos vira-les en el sistema nervioso central.
La panencefalitis esclerosante subaguda ocurre entre dos a diez años luego de la infección aguda, y a menudo es fatal. Se produce en 1:100000 casos de sarampión. Es una infección persistente del sistema nervioso central caracterizada por una replicación lenta del virus. Aún cuando es difícil aislar virus, algunas neuronas contienen numerosas cápsides virales con un genoma que posee mutaciones en el gen M. Esta proteína faltante impide el ensamblaje de los virus y posibilita la persistencia viral.

Diagnóstico Microbiológico
El aislamiento viral puede realizarse a partir de un hisopado faríngeo, aspirado nasal o a partir de una muestra de orina. Luego de inoculado en cultivos celulares produce un efecto citopático con formación de sincicios celulares.
El diagnóstico serológico de la infección primaria se realiza a través de la detección de IgM específica a partir del día 1 ó 2 de iniciado el exantema, esta respuesta se encuentra hasta el día 30; o la demostración de una seroconversión de IgG en dos muestras de suero. La primera de ellas entre el día 1 a 8 del exantema y la segunda muestra entre los días 9 y 25.

Prevención
Se dispone de una vacuna a virus atenuados de sarampión, en la combinación con otras vacunas (MMR, measless: sarampión, mumps: parotiditis, rubéola). La administración de la vacuna en término de las 72 horas del contacto puede brindar protección. La inmunoglobulina puede utilizarse hasta los seis días después de la exposición. En el caso de brotes institucionales, todos los pacientes nuevos deben recibir vacuna e inmunoglobulina antisarampionosa.

Familia Adenoviridae
Adenovirus
Agente infeccioso
Son virus ampliamente distribuidos en la naturaleza y comprenden especies de origen humano y animal (mamíferos, aves y anfibios). Existen 100 serotipos diferentes de adenovirus, 49 infectan al ser humano. Es un virus ADN de simetría icosaédrica y desnudo con proyecciones denominadas pentones. Los adenovirus se caracterizan por producir infecciones persistentes en amígdalas y adenoides de los niños.

Epidemiología
Las infecciones primarias por este virus se producen en los primeros años de vida y sólo el 45% tienen clínica. Pueden producir brotes de conjuntivitis en piscinas con aguas cloradas de modo insuficiente.

Patogénesis
El virus ingresa por la vía respiratoria y digestiva, así como también con el contacto con mucosas como la conjuntival o nasal. El virus se replica en la puerta de entrada y en algunas situaciones produce una fase virémica que lo disemina a sitios distantes como tejido linfoide (mesentérico), riñón, hígado, vejiga, hasta sistema nervioso central. Luego de esta infección aguda puede persistir hasta 18 meses en el tejido linfoide como una infección latente con períodos de reactivación que suelen ser asintomáticos. Los Adenovirus son un ejemplo de la capacidad viral para producir necrosis en la célula, a través de la proteína del pentón. Los Adenovirus pueden evadir la respuesta inmune a través de la fijación de sus proteínas a las moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad de clase I en el retículo endoplasmático, disminuyendo su expresión en las células infectadas. De este modo se interfiere con el reconocimiento por las

células T citotóxicas. Los adenovirus son virus oncógenos cuando son inoculados en otros huéspedes no humanos.

Enfermedad

La enfermedad que producen se relaciona con el serotipo. Los serotipos 1, 2, 3, 5 y 7 producen enfermedad febril en la infancia, fiebre faringoconjuntival, faringitis exudativa en niños menores de tres años de edad, como así también neumonía y otros síndromes respiratorios. Los serotipos 2, 3, 5, 7, 8, 9,19 y 21 producen conjuntivitis. El serotipo 11, cistitis hemorrágica y los serotipos 40 y 41, gastroenteritis aguda.

Diagnóstico microbiológico

El diagnóstico se realiza aislando el agente en cultivos celulares, o bien detectando sus ácidos nucleicos o antígenos. La muestra clínica depende de la enfermedad, hisopado faríngeo, hisopado de conjuntiva, materia fecal. El aislamiento viral puede no significar enfermedad, pues es un modelo de persistencia.

Prevención

Las medidas preventivas son el lavado de manos entre los contactos con los pacientes y el aislamiento. No existe tratamiento ni medidas de prevención específicas.

Familia Togaviridae

Virus Rubéola

Agente infeccioso

Virus de la rubéola, clasificado dentro de la Familia Togaviridae, Género Rubivirus. Este virus integra la Familia Togaviridae. El virus ingresa por la vía respiratoria infectando la mucosa y los ganglios linfáticos. Esta multiplicación le permite acceder a sangre desde donde llega al sistema retículoendotelial del hígado, ganglios y bazo. Desde allí en una viremia secundaria, si la mujer está embarazada, puede infectar a la placenta y al feto. La infección postnatal produce una enfermedad exantemática leve, que responde al modelo agudo de infección viral mientras que la infección prenatal es una infección persistente que puede producir lesiones en el feto o su muerte. El agente puede aislarse del tracto respiratorio superior y de numerosos fluidos corporales en la rubéola congénita.

Epidemiología

Es una infección de distribución mundial. Existe un solo inmunotipo del virus, por lo que un individuo inmune (ya sea que los anticuerpos específicos hayan sido adquiridos por infección natural o por vacunación), queda protegido ante sucesivas reexposiciones al virus. El único reservorio es el hombre y el virus se mantiene en la naturaleza por pasa-je de individuos infectados a susceptibles.

El Virus Rubéola tiene la particularidad de producir infecciones postnatales y congénitas. En las infecciones postnatales el modo de transmisión es la vía respiratoria, por contacto de individuos susceptibles con secreciones nasofaríngeas de individuos infectados. En las infecciones congénitas la vía de transmisión es la transplacentaria.

Patogénesis

Infección postnatal: El virus ingresa al huésped por vía respiratoria y replica en epitelio nasofaríngeo, a partir de donde se disemina a ganglios regionales Esto ocurre durante la primera semana. Posteriormente, el virus llega a sangre (viremia), alcanzando piel, sistema retículo endotelial, hígado y riñón. La diseminación del virus a diferentes tejidos coincide con la aparición de anticuerpos específicos y signos y síntomas (exantema y síntomas generales).

Infección congénita: Cuando la infección afecta a una mujer embarazada, el virus, una vez que alcanza el torrente sanguíneo, puede atravesar placenta e infectar al feto; estableciendo una infección sistémica y persistente que inhibe y/o retarda la mitosis de las células fetales.

Mientras más temprano se instale la infección durante la embriogénesis, mayor será el daño celular producido por el virus y por lo tanto, mayor el riesgo de daño funcional y/o anatómico de órganos fetales.

Enfermedad

Rubéola Postnatal: Es una enfermedad febril exantemática aguda, que se caracteriza por una erupción poco perceptible, que se inicia en la cara y progresa al resto del cuerpo, haciéndose más intensa en el tronco. En los niños es una enfermedad leve que se resuelve en 2-3 días. Adquiere mayor relevancia en los adultos, en los que el pródromo, además de la erupción y fiebre leve, se caracteriza por artralgias y linfoadenopatías postauricular, occipital y cervical posterior.

El período de transmisibilidad es de aproximadamente una semana antes y una después de iniciado el exantema.

Rubéola Congénita: Los fetos infectados durante las primeras semanas de gestación están expuestos al riesgo de muerte intrauterina, aborto espontáneo o malformaciones congénitas aisladas o combinadas, como sordera, cataratas, microftalmia, microcefalia y cardiopatías. El riesgo de daño fetal es inverso a la edad gestacional del feto, esti-mándose un riesgo de aproximadamente 50% durante el primer trimestre del embarazo y entre un 10 y 20% hasta la semana 16. El daño fetal es muy poco frecuente cuando la madre adquiere la infección después del quinto mes de embarazo.
El Virus Rubéola establece en el feto infectado un modelo de infección persistente crónica, que se resuelve de 1 a 3 años posteriores al nacimiento del niño. Hasta tanto se resuelva la infección, los niños con rubéola congénita excretan el virus por vía respiratoria y orina.

Diagnóstico microbiológico
Rubéola Postnatal: La primoinfección se confirma a) demostrando un aumento signifi-cativo del título de anticuerpos específicos (conversión serológica) entre muestras de suero tomadas en la fase aguda y convaleciente de la enfermedad (primera y tercera semana de iniciado el cuadro clínico) o b) detección de IgM específica en una única muestra de suero tomada dentro de los 30 días de iniciado el cuadro clínico.
Rubéola Congénita: El diagnóstico de rubéola congénita en el recién nacido se confir-ma por la presencia de IgM específica en una única muestra de suero o por la persis-tencia durante 6 meses o más del título de anticuerpos IgG específico. También puede confirmarse la infección congénita por aislamiento del Virus Rubéola de secreciones faríngeas u orina.

Tratamiento
No existe tratamiento específico para la enfermedad. Se recomienda evitar el contacto de mujeres embarazadas con individuos infectados con el Virus Rubéola.
Prevención
Se dispone de una vacuna a virus vivo atenuado monovalente o combinada con vacuna anti sarampión y anti parotiditis (vacuna triple viral). De acuerdo al calendario oficial de vacunación, se debe administrar la primera dosis al año de edad y un refuerzo al ingreso escolar (5-6 años de edad).
Es conveniente que toda mujer en edad fértil conozca su serología para rubéola. En caso de resultar susceptible debe vacunarse y evitar el embarazo en los 3 meses posteriores.

Familia Herpesviridae
La Familia Herpesviridae está formada por numerosos virus ampliamente distribuidos. La prevalencia de estas infecciones es alta y muchas de ellas son asintomáticas. Todos producen una infección inicial a partir de la cual establecen una infección persistente, con un estado de latencia del agente, que permanece oculto reapareciendo periódicamente en nuevos episodios clínicos (recurrencia). Durante la persistencia el ADN viral se encuentra como un episoma (es decir no integrado al genoma celular) con una expresión limitada de los genes virales para conservar su estado de latencia. Los agentes son virus envueltos a ADN.
En la actualidad se dispone de medicamentos antivirales para la mayoría de los inte-grantes de esta familia.

Virus Herpes Simplex tipo 1 y tipo 2
El agente infeccioso
Los agentes infecciosos son los virus herpes simplex tipo 1 (HSV-1) y herpes simplex tipo 2 (HSV-2)
Epidemiología (distribución, reservorios, susceptibilidad)
El hombre es el único reservorio natural. El modo de diseminación es a través del contacto directo con secreciones infectadas. En la edad adulta el 90% de la población tiene anticuerpos para el HSV-1.
La presencia de anticuerpos para HSV-2 es rara antes de la pubertad. Este virus se relaciona con la actividad sexual y la transmisión sexual es el modo principal de dise-minación. Entre el 15 y el 30% de los adultos sexualmente activos tiene anticuerpos para HSV-2.

Patogénesis
El virus penetra por contacto íntimo de las mucosas con secreciones de lesiones o secreciones provenientes del individuo infectado o a través del canal del parto en el recién nacido. La infección de la mucosa se traduce en lesiones vesiculares en la boca (infección aguda en epitelios), la piel o los genitales, desde donde el virus accede al sistema nervioso desplazándose por los axones hasta los lugares de latencia en los ganglios sensoriales (infección persistente en neuronas). La infección persistente del tejido nervioso por HSV no produce muerte neuronal. Este es el sitio de persistencia a partir del cual, en ciertos momentos de la vida del hospedero, el virus iniciará nuevamente

sus ciclos replicativos que lo llevarán a los epitelios, donde puede o no traducirse en una nueva lesión clínica. No están aclarados los mecanismos que producen la reactivación viral. Como factores precipitantes se encuentran la luz ultravioleta, fiebre y trastornos psíquicos. Clásicamente se delimitaba la infección del Herpes Simplex tipo 1 a la zona de "la cintura para arriba" y la del tipo 2 "de la cintura para abajo", sin embargo esta situación ya no es verdadera.
Los cuadros clínicos de la primoinfección son más graves que las recurrencias, la presencia de anticuerpos previos limita en los infectados la duración y extensión de la reactivación viral. En los pacientes con inmunodeficiencias, de un modo especial en aquellas pertenecientes a la inmunidad celular, la reactivación del HSV se acompaña de excreción viral prolongada y persistencia en las lesiones.

Enfermedad
Herpes Sim plex tipo 1
El virus infecta los tejidos de origen ectodérmico tales como piel, boca, conjuntiva y sistema nervioso. Produce lesiones vesiculares agrupadas que con el tiempo y por la contaminación con la microbiota normal se vuelven pustulosas y coalescentes, que luego se cubren de costras. La infección primaria por HSV-1 suele ser asintomática o manifestarse sobre todo en niños como una gingivoestomatitis con lesiones muy dolorosas en mucosa bucal, lengua, encías y faringe. Luego de la infección inicial el virus persiste en las neuronas de los ganglios de la raíz nerviosa sensitiva del nervio trigémino. El virus puede reactivarse y excretarse en saliva en ausencia de lesiones clínicas.
En ocasiones el virus produce en los dedos o en las uñas de las manos el panadizo herpético. La infección ocular es una causa frecuente de lesión corneal y ceguera. Las infecciones en este caso suelen afectar la conjuntiva y la córnea.
Las encefalitis por HSV-1 son poco frecuentes, y afectan el lóbulo temporal. La mayor parte de los casos sucede en los adultos durante las reactivaciones. La infección primaria por este virus en la zona nasal es una puerta de entrada al SNC a través de la ruta del bulbo olfatorio.

Herpes Simplex tipo 2
El HSV-2 produce el herpes genital. Esta es una enfermedad transmitida por contacto sexual. La infección herpética genital primaria es poco frecuente y suele cursar con síntomas generales (fiebre, mialgias), adenopatías y lesiones vesiculopustulosas. Las reactivaciones pueden o no cursar con una clínica.
El herpes neonatal es la infección del neonato como resultado de la transmisión del virus durante el parto a través de las secreciones vaginales infectadas de la madre. En general la madre es seronegativa y se primoinfecta cerca del parto o durante él. El niño se infecta como consecuencia de no poseer la inmunidad pasiva de la madre y al atravesar el canal del parto. Esta infección neonatal es muy grave y tiene una mortalidad del 60%, afectando hígado, SNC, piel, conjuntivas, boca. La infección congénita por un mecanismo intrauterino es poco frecuente.

Diagnóstico microbiológico
En el diagnóstico suelen utilizarse los métodos directos. El virus puede aislarse en el líquido de las vesículas hasta 3 días luego de su aparición, o en el líquido cefalorraquídeo, según la clínica del paciente. La respuesta inmune aparece entre la semana y los 14 días después. Durante las reactivaciones puede no aparecer IgM así como la IgG no presentar seroconversión. De este modo la serología no suele ser de utilidad pues los títulos de anticuerpos pueden no modificarse durante las reactivaciones.

Tratamiento y prevención
La prevención consiste en evitar los contactos con las secreciones infectadas utilizando prácticas sexuales protegidas. Las infecciones neonatales se previenen, ante la existencia de lesiones genitales maternas, por cesárea. Los fármacos antivirales son el aciclovir, análogo de nucleósidos. También se utilizan el valaciclovir y el fanciclovir.

Virus Varicela-Zoster
El agente infeccioso
El virus tiene la misma estructura general de los agentes de la familia Herpesviridae y existe un solo tipo antigénico.

Epidemiología (distribución, reservorios, susceptibilidad)
Es una infección de amplia distribución y el 90% de la población general mayor de 10 años tiene anticuerpos. El único reservorio es el ser humano. La mayor incidencia de la varicela es en los meses de invierno y primavera. El modo principal de transmisión es

respiratorio, aún cuando el virus puede transmitirse a partir de las lesiones vesiculares.

Patogénesis
Este virus se transmite a través del tracto respiratorio y por contacto con el líquido de las vesículas. Produce una infección respiratoria y una fase virémica que lo lleva a hígado, bazo y sistema retículoendotelial. Con una segunda viremia alcanza piel, mucosas y sistema nervioso central. Allí, se desplaza por los axones hasta los lugares de latencia en los ganglios sensoriales. En este sitio de persistencia puede reactivarse produciendo otra entidad clínica: zoster. La inmunidad humoral y la mediada por células son importantes para controlar la replicación del virus fuera de los sitios de persistencia. En este sentido la reactivación puede ocurrir en inmunodeprimidos o bien, cuando el individuo alcanza la edad adulta, como consecuencia del tiempo transcurrido desde la primoinfección y de una caída de la memoria inmunológica.

Enfermedad
La primoinfección en los niños se caracteriza por una erupción vesicular generalizada en piel y mucosas denominada varicela. Esta erupción en un principio las lesiones son máculas, luego pápulas, vesículas y costras; que aparecen en brotes sucesivos. El período de incubación es entre 10 a 21 días. Los pacientes son contagiosos desde 2 días antes del comienzo de la erupción hasta 4 días después. En niños con trastornos inmunológicos, así como en los recién nacidos que se primoinfectan en la primera semana de vida y en los nacidos de madres que se infectaron antes del parto tienen más posibilidades de padecer una varicela diseminada con neumonía, hepatitis e infec-ción del SNC.
En los adultos, la reactivación del virus presente en los ganglios de las raíces dorsales produce el herpes-zoster en los trayectos de los nervios periféricos, caracterizado por erupción vesicular y dolor en las zonas inervadas por estos nervios sensitivos.
La varicela materna en los primeros meses del embarazo puede producir una varicela congénita con hipoplasia de las extremidades, microcefalia, cataratas, coriorretinitis entre otras.
La administración de aspirina en los pacientes con varicela es un antecedente frecuente del Síndrome de Reye.

Diagnóstico microbiológico
El aislamiento viral puede realizarse a partir de una punción del líquido vesicular realizada hasta 3 días de su aparición. La seroconversión y la aparición de IgM señalan la infección primera por el virus varicela-zoster. La IgM aparece 4 días después del exantema y cae a niveles no detectables 4 semanas después. La IgG es detectable 5 días luego del exantema y permanece durante toda la vida, aún cuando puede caer en la quinta década de la vida.

Tratamiento y prevención
Las medidas preventivas se basan en: el aislamiento de los niños infectados, la desin-fección de los objetos contaminados con secreciones nasofaríngeas y la protección de los contactos con inmunoglobulina específica. La inmunoglobulina hiperinmune, administrada en las primeras 96 hs. a la exposición, es de utilidad para prevenir la infección o disminuir la enfermedad en los pacientes inmunodeprimidos.
Se dispone de una vacuna con virus vivos atenuados.
La vidarabina y el aciclovir son eficaces antivirales.

Citomegalovirus
El agente infeccioso
Pertenece a la familia Herpesviridae y produce también infecciones persistentes. Son virus ADN con envoltura, que infectan de modo persistente al hombre con episodios de reactivación (infección persistente latente).

Epidemiología (distribución, reservorios, susceptibilidad)
La infección por Citomegalovirus es muy prevalente y aproximadamente el 90% de la población adulta posee anticuerpos. El virus se encuentra en saliva, orina, secreciones cervicales o vaginales, semen, así como también en leucocitos durante períodos prolongados de tiempo luego de la infección primaria (meses o años). Esto último ocurre en particular en las infecciones congénitas o perinatales, donde es posible encontrar el virus en orina y saliva por 2 a 5 años. El período de incubación es entre 3 y 12 semanas.

Patogénesis
El agente puede ingresar a través de la saliva, por vía sexual, por sangre (transfusiones sanguíneas), por vía transplacentaria y durante la lactancia (leche materna) desde donde accede a los epitelios. La replicación en los epitelios produce una viremia y la infección de los linfocitos B, polimorfonucleares y monolitos así

como también de las células de los endotelios vasculares. La infección de las células del sistema inmune da cuenta de la inmunodepresión y las superinfecciones bacterianas. La diseminación virémica le permite alcanzar otros órganos blancos tales como pulmón, hígado, riñón y placenta. En la patogénesis de las infecciones por citomegalovirus intervienen tanto la actividad viral directa como también la respuesta citotóxica del huésped, esto último en particular en las infecciones pulmonares. En el huésped inmunodeprimido produce infecciones severas.

Enfermedad

La infección del feto durante la gestación produce malformaciones congénitas, en especial si ocurre al inicio del embarazo en madres susceptibles (sin anticuerpos anti Citomegalovirus). La infección congénita se produce cuando al inicio del embarazo (pri-mer trimestre) la madre tiene su primer contacto con el virus. El feto queda expuesto al agente sin la protección de los anticuerpos maternos. Aproximadamente el 30% de las infecciones congénitas producen lesiones fetales tales como hepatitis, microcefalia, coriorretinitis, bajo peso, entre otros. La clínica también puede aparecer años después, tal como sucede con el retraso mental y la sordera. La reactivación viral de una madre seropositiva no suele producir enfermedad congénita. Es también importante considerar que la madre puede excretar virus por el canal de parto e infectar durante el nacimiento al niño; así como también durante la lactancia. Estas infecciones se denominan perinatales. Las infecciones perinatales suelen ser asintomáticas en los individuos inmunocompetentes. Lo mismo ocurre en las infecciones primarias durante la infancia. La enfermedad grave se produce también en los recién nacidos seronegativos que reciben transfusiones de sangre proveniente de dadores seropositivos. Algo similar ocurre en los receptores de transplantes (médula ósea o riñón) seronegativos que reciben implantes de personas seropositivas. En las infecciones en los adultos se puede producir un síndrome mononucleósico.

En pacientes trasplantados y en individuos con alteraciones de la respuesta inmune la infección primaria o la reactivación son graves y pueden causar neumonía intersticial o hepatitis. En los individuos inmunocomprometidos tanto la primoinfección como la reac-tivación suelen ser graves. En los transplantados de médula ósea produce neumonía intersticial, en los infectados con VIH; coriorretinitis, gastroenteritis y encefalitis.

Diagnóstico microbiológico

En el recién nacido el diagnóstico se realiza aislando el virus o por detección de ácidos nucleicos en una muestra de orina. En el adulto la seroconversion o la presencia de IgM específica indican contacto o infección reciente. La interpretación de los resultados es compleja por el modelo de infección (persistencia, reactivación) que produce.

Tratamiento y prevención

El ganciclovir, el foscarnet y el cidofovir, inhiben la replicación del virus y se utilizan en el tratamiento de las infecciones. Como prevención es importante evitar la transfusión de sangre seropositiva a niños seronegativos así como evitar el transplante de órganos en similares situaciones. En caso de ser inevitable, se utilizará inmunoglobulina hipe-rinmune y antivirales como profilaxis.

Virus Epstein-Barr

El agente

Es un virus perteneciente a la familia Herpesviridae, oncógeno, que produce infeccio-nes persistentes y con un tropismo hacia las células epiteliales y los linfocitos B.

Epidemiología

Es un virus muy prevalerte. El 90% de la población adulta posee anticuerpos. A la edad de 5 años el 50% tiene anticuerpos. Tiene un solo serotipo.

Patogénesis

El virus se transmite por contacto íntimo con secreciones nasofaríngeas y saliva, repli-cando en el epitelio de la orofaringe desde donde una viremia lo lleva al hígado, ganglios linfáticos y bazo. La infección alcanza así a los linfocitos B, sitio de persistencia del virus. Produce la mononucleosis infecciosa, enfermedad característica de la ado-lescencia y asociada al "beso húmedo". Es un virus oncógeno que está asociado al lin-foma de Burkitt y al carcinoma nasofaríngeo.

Enfermedad

El virus puede producir, cuando ingresa al individuo susceptible, la mononucleosis infecciosa; patología caracterizada por fiebre, angina exudativa, linfade-

nopatía y hepa-toesplenomegalia. El período de incubación es de 4 a 7 semanas. El virus es oncógeno, está asociado al linfoma de Burkitt, al carcinoma nasofaríngeo y a otro tipo de linfomas. El linfoma de Burkitt es un tumor de linfocitos B endémico en niños en zonas de elevada prevalencia de paludismo y grandes precipitaciones como el África tropical y las planicies de Papúa Nueva Guinea. Además en estas regiones el virus ingresa a muy temprana edad. El carcinoma nasofaríngeo es un tumor maligno de las células epite-liales de la nasofaringe que suele afectar a adultos. Tiene una elevada prevalencia en el sur de China, sudeste asiático, norte y este de África y regiones árticas. Quizás como factores importantes en el desarrollo de la neoplasia se encuentren la dieta de estas regiones, rica en pescado ahumado y con elevada cantidad de nitrosaminas. También el virus produce linfomas no Hodgkin en inmunodeprimidos, como los infectados por VIH, por ejemplo.

Diagnóstico microbiológico

La presencia de IgM contra el antígeno de cápside viral indica infección reciente. Luego aparece la IgM contra el mismo antígeno que se mantiene toda la vida.El material para su aislamiento en el síndrome mononucleósico es la secreción nasofaríngea, aún cuando no suele utilizarse esta metodología.

Tratamiento

No hay antivirales específicos para este virus.

Picornavirus

Son virus desnudos con simetría icosaédrica que tienen un diámetro comprendido entre 20 y 30 nm. Su genoma es un ARN de cadena simple no segmentado de polaridad positiva, el cual esta protegido por una cápside formada por cuatro proteínas: VP1, VP2, VP3 y VP4.

La familia Picornaviridae está formada por tres géneros de virus que infectan humanos: Enterovirus, Rhinovirus y Hepatovirus (dentro de este género se encuentra el virus de la hepatitis A); y dos géneros que infectan animales: Aftovirus y Cardiovirus.

Género Enterovirus

El género Enterovirus esta constituido por más de 70 serotipos que se clasifican en diferentes especies: Poliovirus, Coxsackie grupo A, Coxsackie grupo B, Echovirus y Enterovirus Humanos.

A pesar del gran número de serotipos existentes estos virus comparten características clínicas, epidemiológicas y propiedades físico-químicas. Difieren entre sí por el distinto comportamiento en cultivos celulares y en la antigenicidad.

La carencia de envoltura lipídica le confiere a los Enterovirus resistencia al pH ácido, lo que les permite atravesar el estómago y replicar en el tracto intestinal. Esta es su principal característica.

Clasificación de los Enterovirus y sus correspondientes serotipos

Especie	Serotipos
Polio	1, 2, 3
Coxsackie A	A1 a A22, A24
Coxsackie B	B1 a B6
ECHO	1 a 9, 11 a 27, 29 a 33
Enterovirus	68 a 71

Especie Poliovirus

El agente infeccioso

La partícula de Poliovirus tiene aproximadamente 27 nm de diámetro, cuya estructura y propiedades físico-químicas son las características de la familia Picornaviridae.

Existen tres serotipos de Virus Polio.

Epidemiología

La poliomielitis es una infección endemo-epidémica que puede o no tener afectación del sistema nervioso central. La transmisión es por vía fecal-oral y más del 90% de las infecciones son subclínicas.

Existen dos linajes de Virus Polio en la naturaleza: el virus salvaje, que es el neurotrópico; y el virus vacunal, producido por el hombre a partir del virus salvaje y diseminado en la población a través de los programas de vacunación.

El Virus Polio salvaje se encuentra actualmente en vías de erradicación mundial. El hecho de que el hombre es el único reservorio hace que esto sea posible a través de los programas de vacunación. Aún así, todavía hay circulación de Virus Polio salvaje en Asia, África, Oceanía y Europa Oriental. La circulación endémica está erradicada en Europa Occidental, Australia y el continente Americano.

Patogénesis

Una vez que ingresa el virus hace una replicación en faringe, intestinos y en tejido lin-foide que rodea a

estos órganos, luego hace una viremia de corta duración que le per-mite alcanzar el sistema retículo endotelial. En las infecciones asintomáticas el virus es neutralizado a este nivel por el sistema inmune del huésped, aunque en algunos casos el virus puede hacer una segunda viremia que le permite llegar a las meninges o al sistema nervioso central. Cuando el virus llega al SNC infecta y necrosa selectivamente las motoneuronas de la médula espinal, tallo cerebral o bulbo raquídeo. Debido a esto, las fibras de músculo esquelético correspondientes a estas motoneuronas quedan denervadas y como consecuencia ocurre su parálisis y atrofia.
El período de incubación es de 6 a 20 días.

Enfermedad
La manifestación clínica de la infección por Poliovirus es muy variada; más del 90% de los infectados no tienen síntomas, aproximadamente el 8% hace una enfermedad febril indiferenciada llamada poliomielitis abortiva, el 1% desarrolla meningitis aséptica y sólo el 0,1-1% desarrolla la enfermedad paralítica. La enfermedad puede ser causada por cualquiera de los tres serotipos.
Infecciones asintomáticas: corresponde a los individuos que no tienen signos y síntomas de la infección. Estos individuos eliminan el virus por materia fecal por dos o tres semanas después de la infección, convirtiéndose en portadores asintomáticos.
Poliomielitis abortiva: se trata de un síndrome febril en el cual hay un compromiso indefinido del estado general del paciente, donde los síntomas pueden ser: dolor faríngeo, cefalea, dolor abdominal, náuseas, vómitos, diarreas y complicaciones respiratorias. Estos síntomas pueden estar acompañados de mialgias y artralgias, pero no hay pará-lisis y la recuperación es total.
Meningitis aséptica: es indiferenciable de la meningitis aséptica causada por otros Enterovirus. Es una poliomielitis abortiva en donde el virus alcanza a infectar las meninges. Cursa con mialgias, rigidez de nuca, hiperestesias y parestesias.
Poliomielitis paralítica: en el inicio los síntomas son idénticos a la parálisis abortiva, pero aparecen espasmos musculares que anteceden a la parálisis fláxida. Ésta se instala en 48 horas siguiendo un curso rápido donde desaparecen los reflejos tendinosos y posteriormente se empieza a evidenciar la disminución del tono muscular. La parálisis de las piernas es asimétrica y en los casos más graves hay compromiso de toda la médula espinal con cuadriplejia, parálisis de los músculos toráxicos y arreflexia general.
También puede ocurrir una poliomielitis bulbar, la cual es rara y se caracteriza por una enfermedad respiratoria muy severa acompañada de dificultad para deglutir y hablar.

Diagnóstico
El diagnóstico de la poliomielitis puede realizarse a través de la detección de anticuerpos específicos IgM en una muestra de suero tomada durante la fase aguda o IgG en muestras tomadas en las fases aguda y convaleciente de la enfermedad. También puede hacerse mediante la detección de antígenos en la materia fecal, hisopado faríngeo o LCR.

Prevención
Existen dos vacunas para prevenir la poliomielitis: la vacuna oral que consiste en virus vivo atenuado a través de pasajes en cultivos celulares (vacuna Sabin) y la vacuna parenteral, constituida por virus inactivados químicamente (vacuna Salk).
La vacuna Sabin tiene algunas ventajas sobre la vacuna a virus inactivado: 1) Es de fácil administración (vía oral). 2) Confiere inmunidad intestinal, porque los virus atenuados se multiplican en el tubo digestivo haciendo que el organismo produzca mayo-res niveles de IgA secretora específica. 3) Los virus que se multiplican en intestino son eliminados por materia fecal, lo cual tiene un efecto multiplicador al inmunizar secundariamente a otros individuos que se contagian con el virus vacunal.
No obstante estas ventajas, algunos virus atenuados que circulan en la naturaleza han revertido a virus agresivos que pueden generar parálisis. Debido a esto algunos países optaron por cambiar la vacuna oral por la vacuna a virus inactivado.

Especies Coxsackie, Echovirus y Enterovirus 68-71

El agente infeccioso
Estos virus comparten las mismas características morfológicas y propiedades físico-químicas de la familia Picornaviridae. Se han descripto 23 serotipos para la especie Coxsackie A (A1 a A22 y A24), 6 serotipos para Coxsackie B (B1 a B6), 31 serotipos para Echovirus (1 a 9, 11 a 27 y 29 a 33) y 5 serotipos para Enterovirus Humanos (68 a 71).

Epidemiología
Los Enterovirus están ampliamente distribuidos en el mundo. El hombre es el único reservorio conocido y la transmisión ocurre principalmente por vía fecal-oral, pero también por vía respiratoria.
Mas del 50% de las infecciones son asintomáticas, lo cual conduce a una gran cantidad de portadores sanos que eliminan virus al medio ambiente a través de las heces; haciéndolos detectables en aguas residuales.
Estos virus causan infecciones endémicas y epidémicas que son más frecuentes en verano y otoño. Las personas más susceptibles a la infección son los niños, los lac-tantes y personas de niveles socioeconómicas bajos; esto último es debido a las pre-carias condiciones de higiene que favorecen la vía de transmisión fecal-oral.

Patogénesis
Después de penetrar en el organismo los Enterovirus hacen una primera replicación en la faringe y en el intestino; luego se diseminan por vía sanguínea a otros tejidos blanco que pueden ser: la piel, el sistema nervioso central, el miocardio, las meninges o el páncreas. En estos órganos el virus hace una segunda replicación, pudiendo dar síntomas clínicos muy variados.
Aunque determinadas especies y serotipos de Enterovirus se asocian con frecuencia a distintas enfermedades, potencialmente cualquier Enterovirus puede producirlas.
El período de incubación puede variar desde 2 a 35 días.

Enfermedades
Herpangina: Es una enfermedad caracterizada por pequeñas ulceraciones de 2 a 3 mm de diámetro en la parte superior de la boca. Cursa con dolor de garganta y fiebre durante 2 o 3 días. Las ulceraciones duran de 5 a 7 días y no aparecen en la parte delantera de la boca o en las encías. Esta enfermedad es ocasionada por los serotipos de virus Coxsackie A.

Meningitis aséptica: Los síntomas más comunes son fiebre, dolor de cabeza severo, rigidez de cuello, dolor de ojos, sueño o confusión, náusea y vómito. Es causada por los virus Coxsackie y Echovirus, que son los agentes etiológicos del 90% de las meningitis virales.

Enfermedad pie-mano-boca: ocurre generalmente en niños entre los 6 meses y 5 años de edad. Es una enfermedad benigna con un período de incubación de 3 a 7 días y dura aproximadamente de 7 a 10 días. Se caracteriza por la aparición de vesículas que primero aparecen en la boca y luego en las manos y en los pies. Las vesículas están acompañadas por fiebre ligera, malestar general, dolor abdominal, vómitos, coriza y diarreas. Está ocasionada principalmente por virus Coxsackie A16, aunque también los serotipos A4, A5, A9, B2, B5 y Enterovirus 71 pueden ocasionarla.
Enfermedad respiratoria: afecta principalmente a niños pequeños. Es una infección del tracto respiratorio superior caracterizada por faringitis. Puede ser producida por muchos serotipos de Coxsackie A, Coxsackie B, Echovirus y también por Enterovirus 68 y 71.
Exantema: la enfermedad exantemática producida por Enterovirus consiste en una erupción maculopapular en la cara, cuello y tórax. Está asociada principalmente a Echovirus 9, aunque también Echovirus 4, 16 y Coxsackie pueden producirla.

Conjuntivitis: a menudo la infección por Enterovirus es acompañada de conjuntivitis que puede ser hemorrágica. Está asociada principalmente a Coxsackie A24 y Enterovirus 70.

Enfermedad Cardíaca: La infección cardíaca se manifiesta por miocarditis, pericarditis o pleurodinia. Está asociada principalmente a los serotipos de Coxsackie B y en menor grado a Coxsackie A y Echovirus.
Enfermedad Neonatal: La infección se puede adquirir por vía transplacentaria, pero más común es la adquirida por contacto después del nacimiento. Puede variar desde inaparente hasta una enfermedad fatal. Los síntomas pueden ser letargia, vómitos fiebre, disnea y en algunos casos miocarditis. Está ocasionada principalmente por los serotipos de virus Coxsackie B.

Diarrea: algunos Enterovirus, particularmente Echovirus 4, 11, 14, 18 y 19 han sido aso-ciados a episodios de diarrea.

Síndrome de fatiga crónica: Es una debilidad del músculo esquelético, acompañada de mialgias, cefaleas y dificultad de concentración. Está asociada particularmente a los virus Coxsackie B.

Pancreatitis: puede ocurrir como parte de una infección generalizada en el neonato.

Diagnóstico microbiológico

El diagnostico presuntivo de la infección enteroviral puede realizase a través de la epidemiología y las características clínicas de la enfermedad.

El diagnostico virológico se realiza principalmente a través de métodos directos en muestras de materia fecal, hisopado faringeo, LCR en casos de meningitis, hisopado conjuntival e hisopado de vesículas. Los métodos más usados son el aislamiento del virus en cultivos celulares y detección de antígenos a través de ensayos de ELISA, Inmunofluorescencia y reacción en cadena de la polimerasa (RCP). Hay que tener en cuenta que el aislamiento del virus de la materia fecal no indica necesariamente que el Enterovirus aislado sea el agente etiológico de la enfermedad, pues estos virus pueden excretarse asintomáticamente durante bastante tiempo después de la infección.

El diagnóstico a través de la detección de anticuerpos específicos es de uso limitado debido a la gran cantidad de serotipos de Enterovirus existentes. No obstante en algunos casos excepcionales puede usarse la detección de anticuerpos serotipos específicos por el método de neutralización de la infectividad viral: cuando se conoce, porque se ha aislado previamente, el serotipo causal de una enfermedad o cuando la enfermedad es producida por uno o pocos serotipos de Enterovirus (por Ej.: Coxsackie B1 a B6 en la miocarditis y Coxsackie A16 en la enfermedad pie-mano-boca).

Tratamiento y Prevención

El tratamiento de la enfermedad enteroviral es sintomático.

Actualmente no hay vacunas disponibles para la prevención de la enfermedad por Enterovirus no-polio. La higiene general y el lavado frecuente de las manos son métodos efectivos para reducir la transmisión de estos virus.

Manifestaciones clínicas asociadas a los Enterovirus

Poliovirus	Poliomielitis paralítica
	Meningitis aséptica
	Síndrome febril
Virus Coxsackie A	Meningitis aséptica
	Herpangina
	Síndrome febril
	Conjuntivitis
	Síndrome pie-mano-boca
Virus Coxsackie B	Meningitis aséptica
	Síndrome neonatal grave
	Miopericarditis
	Encefalitis
	Pleurodinia
	Síndrome febril
Echovirus	Meningitis aséptica
	Conjuntivitis
	Exantema cutáneo
	Síndrome neonatal grave
	Síndrome febril
Enterovirus 68-71	Meningitis aséptica
	Síndrome pie-mano-boca
	Conjuntivitis epidémica

Género Rhinovirus

Los agentes infecciosos

Presentan las mismas características morfológicas de los Picornavirus, pero a diferencia de los Enterovirus, los Rhinovirus se inactivan a pH ácido. Existen más de 100 serotipos.

Epidemiología

Están distribuidos en todo el mundo y causan aproximadamente un 30 a 35 por ciento de todos los resfriados en los adultos. La transmisión se produce a través de la vía respiratoria, ya sea por contacto directo entre personas e indirectamente a través del contacto con objetos contaminados. Las infecciones ocurren durante todo el año y aumentan su frecuencia en primavera y otoño.

Patogenia y Enfermedad

El virus infecta células de la mucosa nasal produciéndose la quimiotaxis de leucocitos al sitio de la infección, lo que deriva en la inflamación de las membranas nasales, filtración de proteínas y líquido de los vasos capilares y linfáticos, y el incremento en la producción de moco.

El período de incubación es de 2 o 3 días y los síntomas habituales son congestión nasal, lagrimeo, dolor de garganta, tos seca, dolor de cabeza y malestar general leve o moderado. Este cuadro clínico cursa sin fiebre en adultos pudiendo presentarse una elevación moderada de la temperatura en algunos niños.

Tratamiento y Prevención

El tratamiento es sintomático y no existen vacunas

contra los Rhinovirus.

Familia Papovaviridae
El Virus Papiloma Humano (VPH)
El agente y la enfermedad
El Virus Papiloma Humano produce en los epitelios una infección persistente y locali-zada. Es un virus oncógeno. Existen más de 80 tipos virales caracterizados genotípicamente. Estos agentes pueden agruparse en:

a. Tipos virales que producen proliferaciones benignas en epitelios queratinizados. Estos tipos virales no tienen potencial maligno y producen infecciones productivas tales como verrugas plantares (HPV1, HPV3 y HPV10) y verrugas comunes (HPV2).

b. Tipos virales que producen proliferaciones malignas o benignas en mucosas (tracto genital, cavidad oral y laringe). Las infecciones pueden ser productivas o no productivas con un virus que puede integrarse. En este grupo se encuentran aquellos asociados a lesiones cancerosas como los hallados en carcinomas anogenitales HPV16, HPV18 (alto riesgo), HPV31, HPV33, HPV35 (riesgo intermedio), entre otros; y los aso¬ciados con bajo riesgo como HPV6 y HPV11, encontrados en condilomas acuminados, papilomas laríngeos, papilomas conjuntivales y nasales.

c. Tipos virales que infectan a enfermos de epidermodisplasia verruciforme (trastorno genético raro que modifica la susceptibilidad del hospedero a la infección viral).
La infección por HPV tiene un comportamiento variable, puede desaparecer espontáneamente, persistir sin progresión clínica o bien progresar a carcinoma. La progresión clínica está asociada al tipo de HPV y a la histopatología de la lesión. Los factores de riesgo para esta progresión clínica son: la promiscuidad sexual, el hábito de fumar, antecedentes de lesiones citológicas.

Epidemiología
La infección se distribuye en todo el mundo con posibles diferencias geográficas en las prevalencias de tipos específicos. El virus se transmite a partir del contacto directo o a través de fomites, ya sea en epitelios queratinizados o mucosas. Estudios epidemioló-gicos revelan que la prevalencia de la infección es más alta entre adultos jóvenes sexualmente activos. Los modos de transmisión son la vía sexual, oral, perinatal así como la autoinoculación.
El 95% de las infecciones por HPV son subclínicas. En este sentido el 80% de las mujeres entre 20 y 40 años contraerá al menos una infección por HPV en su vida.

Patogénesis
La infección es persistente (productiva o no productiva) y localizada en zonas anatómicas no vascularizadas. Como consecuencia de ello no hay viremia y la respuesta inmune no limita la infección.
Respecto a la capacidad oncógena del virus, la expresión de las proteínas tempranas E6 y E7 forman un complejo con el producto de los genes oncosupresores (p53 y p105Rb, respectivamente) y desencadenan una pérdida de función en la célula infectada. La expresión de estos genes virales es necesaria para la transformación celular pero no es suficiente, es decir, intervienen otros factores del huésped.

Diagnóstico
El HPV es un virus no cultivable. El diagnóstico se realiza mediante técnicas de diagnóstico directo, en particular la detección de ácidos nucleicos virales mediante técnicas de hibridación o amplificación de ácidos nucleicos. El examen clínico y colposcópico son poco sensibles. El diagnóstico por citología a través de la observación del efecto citopático se denomina coilocitosis. Está caracterizado por células que presentan una cavidad perinuclear con bordes irregulares y un citoplasma denso en la zona que rodea esta cavidad. Es inespecífico y necesita su confirmación en el laboratorio microbiológico.

Prevención
Existe lavacuna contra el VPH. La misma comenzó a utilizarse en nuestro país a partir del año 2011 y en el enero de 2015 hubo cambios en el protocolo de vacunación.

Retrovirus
Los retrovirus son virus ARN de polaridad positiva cubiertos, que poseen una enzima denominada transcriptasa inversa que sintetiza a partir de un genoma ARN una copia de ADN, que luego se integra a la célula hospedero. De un modo similar a todos los virus cubiertos son virus que para su transmisión requieren

un contacto estrecho con el hospedero. El primer retrovirus humano fue el Virus de la Leucemia Humana a Células T tipo 1 (HTLV-1) descubierto en la década de los 70'. Este virus se demostró asociado a la leucemia de células T del adulto, patología observada en Japón, África y Caribe. Posteriormente el HTLV-2 se asoció a la leucemia de células vellosas y el HTLV-5 a micosis fungoide. Posteriormente se aisló VIH-1 y VIH-2 de pacientes con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA).

Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH 1, VIH 2)

El agente infeccioso

El virión mide 100 nm de diámetro y posee dos copias del genoma de ARN de cadena simple positiva. El genoma está cubierto por la proteína de nucleocápside con la proteína p15 y éstos encerrados en una cápside compuesta por múltiples subunidades de una proteína p24. Luego de la cápside se encuentra la proteína de matriz viral. La envoltura finalmente contiene todo el contenido del virión, la adquiere durante la gemación por la célula huésped y posee dos proteínas la gp41 o proteína de transmembrana y la gp 120 o proteína de superficie. También posee proteínas no estructurales esenciales para el ciclo replicativo tales como la transcriptasa inversa, la proteasa e integrasa.

Genes retrovi rales	Proteínas	Función
gag	Matríz Cápside Nucleocápside Proteasa	Proteína estructural Proteína estructural Proteína estructural Replicación, procesamiento de las proteínas virales
pol	Proteasa Transcriptasa inversa Integrasa	Replicación, procesamiento de las proteínas virales Replicación, síntesis de ADN Replicación, integración al ADN
Env	Glucoproteínas de superficie Proteína de transmembrana	Replicación, adsorción del virus Fusión de la envoltura con la membrana plasmática

Epidemiología (distribución, reservorios, susceptibilidad).

Patogénesis

Los viriones se adsorben a la superficie celular e ingresan por fusión de membranas. En el VIH-1 la proteína de inserción del virus es la gp 120 y el receptor celular es la molécula CD4 con uno de los coreceptores de quimicinas tales como CXCR4 ó CCR5, receptores presentes en los linfocitos CD4 y en monocitos y macrófagos. Luego la gp 41 es la proteína que produce una fusión entre la membrana celular y la envoltura viral. Al comienzo el virus tiene un particular tropismo hacia el coreceptor CCR5 e infecta de modo preferencial los macrófagos. Luego aparecen variantes formadoras de sincicios que emplean el coreceptor CXCR5 y son trópicos para las células T. La actividad de fusión es importante durante las fases tardías de la infección, habida cuenta que los linfocitos T CD4 infectados se fusionan con aquellos no infectados para formar grandes sincicios, que evitan al virus el pasaje al espacio intercelular y terminan agotando la población de linfocitos CD4.

En la patogénesis de la infección se señalan tres fases: fase aguda, fase asintomática y complejo relacionado a SIDA.

En la fase aguda el virus infecta a las poblaciones linfocitarias y macrófagos que expresan el receptor CD4 así como a una variedad de células que no poseen estas moléculas tales como el epitelio digestivo, renal y astrocitos del sistema nervioso central. No resulta claro cómo puede el virus acceder a estas células. Días después de la infección el virus se multiplica activamente en los linfocitos activados en los nódulos linfáticos produciendo su agrandamiento. Las partículas virales son liberadas a sangre y las respuestas inmunes celular y humoral limitan este proceso a pocas semanas. La población viral en este período es relativamente homogénea, aceptándose que el virus predominante es tan sólo una variante menor del que infectó.

En la fase asintomática, 3 a 4 meses luego de la infección, la viremia queda reducida a bajos niveles con pequeños picos, que pueden aparecer de tanto en tanto. El virus se replica a un índice bajo en los ganglios linfáticos. El título de virus en la sangre puede predecir la evolución de la enfermedad: cuanto más virus más rápida progresión. En este período la población viral se vuelve más heterogénea como consecuencia de la continua selección de mutantes llevada a cabo por la presión del sistema inmune. El número de CD4 disminuye año por año (60 células por microlitro por año), como efecto de la citopatogenicidad del virus y/o de los mecanismos apoptóticos puestos en marcha

por las citoquinas liberadas.
La fase sintomática y Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), es el final de la infección y está caracterizado por el desarrollo de síntomas y signos de SIDA, por una cantidad de CD4 menor a 200/ml y un incremento en la cantidad de virus. También caen los linfocitos CD8. En los nódulos linfáticos la replicación viral se incrementa con

la destrucción del tejido. La población viral se vuelve relativamente homogénea, con un marcado tropismo Ty una virulencia que le lleva a producir sincicios y una cinética rápi-da de multiplicación viral. Los virus pierden su sensibilidad a la respuesta neutralizante, lo que es más utilizan estos anticuerpos para ingresar a células susceptibles. Algunos cambios virales en los genes de la envoltura o en los regulatorios como tal producen variantes más neurotrópicas o con una incrementada patogenicidad en otros órganos.
El virus en la fase aguda se disemina y provoca una reacción inmunitaria poderosa.

Enfermedad
Se considera Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida a todo paciente que posea anticuerpos anti VIH y número de linfocitos CD4 menor a 200 por mm3 o con un porcentaje de linfocitos T CD4 menor al 14% del total de linfocitos.
En la fase aguda la infección puede ser asintomática, aunque en algunas ocasiones se desarrolla, dos a cuatro semanas después del contacto, una enfermedad parecida a la mononucleosis (malestar, fiebre, linfadenopatía, hepatoesplenomegal ia, artralgias y erupción). La infección inicial va seguida de un período asintomático que en la mayoría de los casos prosigue por años. Aproximadamente el 50% de las personas infectadas desarrolla la enfermedad en un período de 10 años. Conforme avanza la enfermedad el número de linfocitos T CD4 disminuye y aparecen las infecciones por agentes infecciosos oportunistas. Uno de ellos es la infección pulmonar por Pneumocystis carinii. También son frecuentes las infecciones por Mycobacterium tuberculosis, micobac-terias medioambientales; las infecciones esofágicas por Candida albicans, las menin-gitis por Criptococcus spp., las coriomeningitis e infecciones digestivas por Citomegalovirus. La enfermedad neurológica es frecuente, con atrofia cerebral y demencia. La enfermedad en África suele acompañarse de diarrea y pérdida de peso severos que se denominan enfermedad de emaciación.

Diagnóstico microbiológico
El diagnóstico se realiza al detectar anticuerpos anti VIH en suero o en plasma en dos momentos. En el primero, mediante una prueba de tamizaje de elevada sensibilidad como el enzimoinmunoensayo (ELISA). Esta prueba puede tener resultados falsos positivos, por lo que los sueros reactivos deben pasar otra etapa de diagnóstico. El segundo mediante una prueba de confirmación de elevada especificidad como el Western Blot o la inmunofluorescencia indirecta (IFI). Los sueros de los individuos infectados deben poseer anticuerpos contra las glucoproteínas de la cubierta (160 kD, 120kD y 41 kD), las proteínas centrales (24 y 18 kD), o ambas. Durante las 2 a 4 primeras semanas de la infección los anticuerpos no son detectables. Este período se denomina período de ventana inmunológica. Durante este período el individuo puede transmitir la infección por donación de sangre. El único método que permitiría su detección es la reacción de cadena de polimerasa para el ARN o el ADN viral. Esta metodo-logía se utiliza también para seguir el tratamiento así como para el diagnóstico de la infección congénita en el recién nacido. De este modo la cuantificación del ARN viral permite el seguimiento de la terapia antirretroviral.

Tratamiento
En el tratamiento se utilizan inhibidores de las enzimas virales transcriptasa inversa, proteasa, integrasa. Otros inhiben la entrada del virus a la célula. El tratamiento se inicia cuando la cuenta de linfocitos T CD 4+ disminuye por debajo de 500/ml o la carga plasmática viral supera las 5000 copias por ml de ARN viral. Las frecuentes mutaciones del ARN viral conducen a la resistencia a los antivirales.

Prevención
Como prevención es posible focalizar diversos aspectos:

· La educación para la salud señalando el aumento del riesgo para la infección con VIH en la actividad sexual con varios compañeros concurrentes o consecutivos así como, el compartir instrumentos para inyectarse drogas. En este sentido resultan de utilidad la abstención o la práctica de relaciones sexuales mono-

gámicas, la utilización de condones de látex cada vez que la persona tenga contacto sexual vaginal, anal u oral.
· Las pruebas de detección anónimas y confidenciales tanto en la población general como en las mujeres embarazadas (controles prenatales).
· El tratamiento de las infecciones de transmisión sexual.
· Normas para evitar la contaminación del plasma y la sangre, examinando la pre-sencia de anticuerpos anti VIH y fomentando la donación altruista de sangre. Las personas con conductas de riesgo deben abstenerse de donar sangre, plasma, semen, leche o huesos. Cuando sea posible, el semen, la leche o los huesos donados deben congelarse y conservarse durante tres a seis meses.
· Utilizar medidas estrictas para la manipulación, el empleo y la eliminación de jerin-gas y otros instrumentos cortantes. El personal de salud debe utilizar guantes de látex, protectores oculares y otro equipo individual de protección para evitar el contacto con sangre o líquidos visiblemente sanguinolentos. Cualquier gota de sangre que entre en contacto con la piel del personal debe limpiarse inmediatamente con agua y jabón.

Virus de la Leucemia Humana a Células T (HTLV) tipo 1 y tipo 2
Producen una infección persistente, lenta. Integran la familia Retroviridae y son virus oncógenos. Estos agentes producen la leucemia adulta a células T y la paraparesia espástica tropical. Estos agentes se transmiten de la madre al feto o al hijo recién nacido, por contacto sexual a través del semen o de la sangre y son endémicos de ciertas zonas de América del Sur, del Caribe, Japón y África. El virus infecta los linfocitos T y los macrófagos.

El diagnóstico virológico directo se realiza mediante el aislamiento (poco frecuente) de leucocitos de sangre periférica. Otro método es la detección de ácidos nucleicos virales en sangre.
El diagnóstico virológico indirecto se realiza con la detección de anticuerpos específicos en suero. Este diagnóstico requiere una técnica de tamizaje (ELISA) y una técnica de confirmación (Western- Blot).

Virus de Hepatitis A (VHA)
Agente Etiológico
El VHA pertenece a la familia Picornaviridae, miembro del género Hepatovirus y posee un solo serotipo. Presenta forma esférica, con una cápside de simetría icosaédrica. No posee envoltura.

Epidemiología
Distribución: La detección de anticuerpos específicos ha permitido describir la presencia de esta virosis en casi todo el mundo, aunque las tasas de infección son muy diferentes en los diversos países. Son muy altas en países tropicales y subtropicales, donde los factores climáticos se agregan a los socioeconómicos por su definitiva influencia en los niveles sanitarios.

Reservorio: el único reservorio es el hombre.
Fuente de infección: el nexo epidemiológico entre el individuo enfermo y el susceptible es el medio ambiente: agua, alimentos contaminados con materia fecal o con otras secreciones o el contacto manual con utensilios o sanitarios contaminados. Entre los alimentos que pueden transmitir el VHA merecen mencionarse especialmente las ostras, las cuales pueden filtrar grandes cantidades de agua y a que el VHA puede per-manecer viable en el agua entre 3 y 10 meses.
Vías de transmisión: la diseminación del VHAse produce principalmente a través de las heces. El ciclo ano-mano-boca ha sido clásicamente propuesto como la vía de transmisión más probable.
Esta enfermedad se presenta en forma epidémica o brotes aislados. Esto generalmente ocurre en el periodo otoño-invierno.
Susceptibilidad: en zonas endémicas, los individuos se infectan en los primeros años de vida, constituyendo una enfermedad de la primera y segunda infancia. A medida que las condiciones de higiene mejoran, la infección se produce a una edad más avanzada.

Patogenia
La hepatitis producida por el VHA es una enfermedad benigna, autolimitada y sin evolución a cronicidad. Es una enfermedad que no deja secuelas y confiere inmunidad de por vida.
El virus ingresa al organismo por la boca. Hay una primera replicación en la orofaringe y de allí pasa a la circulación, desde donde llega al hígado, donde replica en forma eficiente. Por la vía biliar accede al intestino por donde es excretado. El virus puede detectarse en la materia fecal en el periodo prodrómico, 3 a 4 días antes de los signos clínicos.
Los signos y síntomas se deben más, a la respuesta in-

mune del huésped que, a la acción citolítica viral: hay inflamación hepática, con aumento de enzimas hepáticas y de bilirrubina, debido a la congestión biliar y a la capacidad disminuida de conjugación hepática. La enfermedad cursa también con anorexia, nauseas, vómitos, fiebre, hipocolia y astenia.
El periodo de incubación es de 15 a 45 días, seguido por un periodo de estado de 2 a 8 semanas. El 90% de las infecciones en menores de 6 anos son subclínicas. El 75% de los casos son adulto sintomáticos. La mortalidad es menor al 0,1% y generalmente se asocia a otras patologías.

Diagnóstico
El diagnóstico presuntivo se basa en tres pilares fundamentales:
a) La clínica: con el clásica dolor epigástrico, anorexia, astenia, hepato/esplenomegalia.
b) La epidemiología: donde la noción del foco o caso índice se pone de manifiesto con una buena anamnesis.
c) El laboratorio clínico: coluria, acolia, hipertransaminasemia.

El laboratorio virológico: detección de anticuerpos específicos.
El diagnostico virológico se basa en métodos indirectos para detectar anticuerpos específicos para VHA.
La IgM especifica para VHA está presente en el momento de aparición de los síntomas y permanece detectable en suero durante 3 a 6 meses. La IgM es un marcador de infección primaria reciente o aguda.
La IgG específica para VHA aparece entre las 2 semanas posteriores a los síntomas. La IgG es detectable durante toda la vida y es protectora ante nuevos contactos con el virus. La IgG indica exposición al agente, es el marcador de inmunidad previa.
Ambos tipos de anticuerpos se detectan por técnicas de enzimoinmunoensayo (ELISA).

Prevención, Control y Tratamiento
Para prevenir la infección se indica la higiene en la preparación de los alimentos, lavado de manos, lavado de alimentos crudos, cocción de los alimentos e ingesta de agua potable.
En la actualidad hay una vacuna a virus inactivado con formaldehído, que es altamente efectiva. Se aplican 2 dosis con 30 días de diferencia y un refuerzo cada 10 años.
No hay tratamiento antiviral específico para esta infección.

Virus de Hepatitis B (VHB)
El agente infeccioso
El Virus de Hepatitis B, por sus características, sería clasificado como miembro de la familia Hepadnaviridae, siendo el único miembro conocido que infecta al hombre.
El VHB presenta un virión de forma esférica de aproximadamente 42 nm de diámetro al que se denomina partícula de Dane. Además, presenta una estructura interna elec-trónicamente densa de aproximadamente 27 nm de diámetro, denominada “core”, constituyendo la nucleocápside que contiene el genoma ADN de doble cadena incompleta.
Posee diferentes antígenos que producen respuesta inmune en el individuo infectado: el antígeno de superficie (HBs Ag), el antígeno “core” (HBc Ag), el antígeno e (HBe Ag).

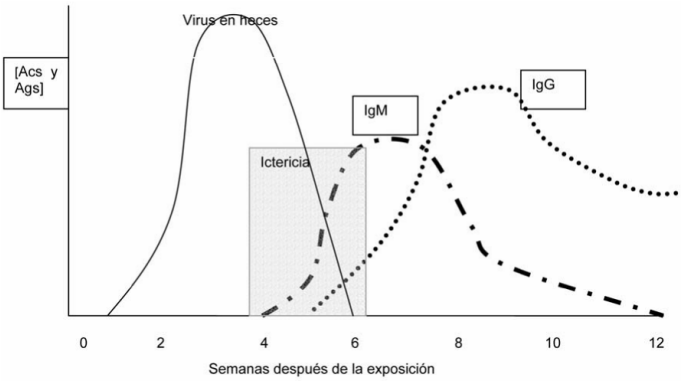


Figura 1: Cinética de antígenos y anticuerpos en función del tiempo.

Epidemiología
Reservorio: son los enfermos de hepatitis B y los portadores crónicos del virus. Se esti-ma actualmente en más de 300.000.000 el número de portadores crónicos del VHB en el mundo.
Fuente de infección: se ha detectado el VHB en diferentes fluidos corporales: sangre, saliva, semen, secreciones vaginales, calostro, orina.
Vías de transmisión: la principal vía de transmisión para este virus es la parenteral, es decir por sangre o sus derivados. La otra vía importante es la sexual. También reviste importancia la vía de transmisión vertical (de madre a hijo). Dado que el VHB conserva su viabilidad durante períodos iguales o mayores a 7 días en superficies ambientales, es posible también la transmisión directa mediante objetos inanimados.

Prevalencia e incidencia

Es un virus de distribución mundial, si bien pueden diferenciarse zonas endémicas de alta prevalencia como por ejemplo: sudeste asiático, ciertas zonas de África y la región amazónica, en Sudamérica.

Existen también zonas de mediana a baja prevalencia, como son: Europa Central, países escandinavos, Canadá, Estados Unidos y Australia.

Nuestro país, zona de baja endemicidad, de acuerdo a los datos que provienen del tamizaje que se realiza en los bancos de sangre; posee una prevalencia para HBsAg menor al 2%.

Patogénesis

El virus ingresa por vía sanguínea y llega directamente al hígado donde se replica. El período de incubación es variable (1 a 6 meses). La sintomatología se manifiesta con inflamación hepática, y marcadores serológicos de injuria hepática (transaminasas, bilirrubina).

El pronóstico, una vez producida la infección, está relacionado con la calidad de la respuesta inmune del huésped y la evolución a la cronicidad está relacionada fundamen-talmente con una falla en la respuesta inmune celular.

La evolución de la infección por VHB se describe en las figuras 1 a y b.

Figura 1a

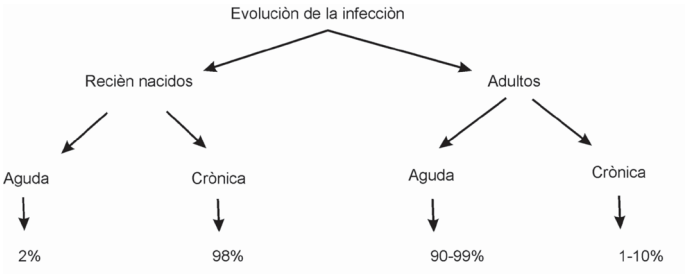
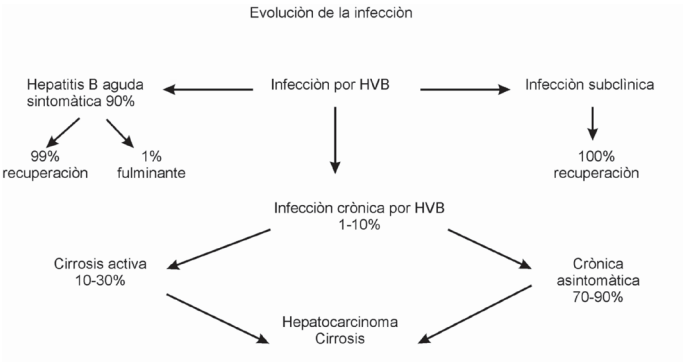


Figura 1b



Cinética de Antígenos y Anticuerpos de la infección

Existen varios marcadores serológicos que caracterizan a las distintas evoluciones posibles de la infección por VHB.

Son útiles para establecer la infección y hacer el seguimiento de la evolución del paciente. Se describen a continuación y se esquematizan en las figuras 2, 3 y 4.

· Antígeno de superficie (HBs Ag): está presente desde la aparición de los síntomas y durante el período sintomático de la infección (aproximadamente 6 meses). Si la infección evoluciona a cronicidad este antígeno perdura toda la vida.

· Anticuerpos contra la proteína de superficie del VHB (Ac anti HBs): son anticuerpos neutralizantes que permiten la eliminación de los virus circulantes. Es el marca-dor de curación o resolución de la infección. Están presentes en persona que supe-raron la infección o se vacunaron contra el VHB.

· Anticuerpos IgM contra el core del VHB (IgM anti HBcore): se detectan tempranamente y se asocian a la replicación activa. Son marcadores de infección reciente.

· Anticuerpo IgG contra el core del VHB (IgG anti HBcore): Es un marcador de infección reciente o pasada.

· Antígeno “e” del VHB (HBe Ag): marcador de replicación viral. Presente en los enfermos con infección aguda. Presente en los pacientes con infección crónica activa.

· Anticuerpo contra el antígeno “e” del VHB (Ac anti HBe): marcador de cese de la replicación viral. Está presente en pacientes que resolvieron la infección y en aquellos con estado de portación crónica.

· ADN del VHB: marcador de replicación viral. Presente en los enfermos con infección aguda y en pacientes con infección crónica activa. Su cuantificación es útil para el monitoreo de la terapia antiviral.

Diagnóstico microbiológico

El diagnóstico de certeza de la infección por VHB se obtiene mediante la detección de marcadores específicos, que en algunos casos además tienen valor pronóstico.

Debido a su elevada sensibilidad, las técnicas más utilizadas actualmente son las de tercera generación como el enzimoinmunoensayo (ELISA) y el radioinmunoensayo (RIA) para la detección de antígenos y anticuerpos de VHB.

La detección de ADN del VHB en plasma se efectúa

por la reacción en cadena de la polimerasa (RCP).

Tratamiento y prevención

La prevención se realiza evitando las conductas de riesgo: compartir agujas, compartir elementos punzantes, compartir cepillos de dientes. Ya que la transmisión por vía sexual es altamente efectiva, se recomienda el uso de preservativo.

Para la profilaxis de esta infección existe una vacuna recombinante que contiene antígeno de superficie. Se administran 3 dosis (0, 30, 90 días) y un refuerzo cada 10 años.

En los recién nacidos de madres infectadas, la vacuna y la gammaglobulina monoespecífica se aplican antes de las 48 horas. Esto reduce las probabilidades de cor

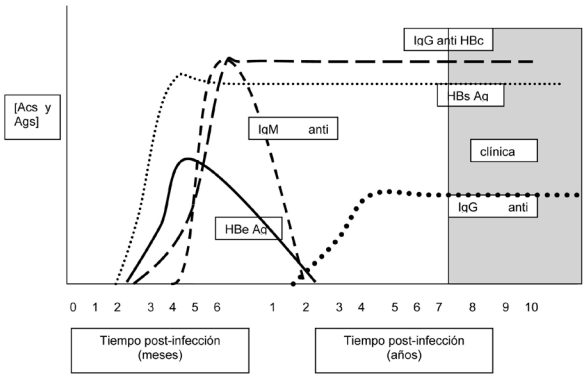


Figura 2. Marcadores serológicos de una hepatitis B aguda

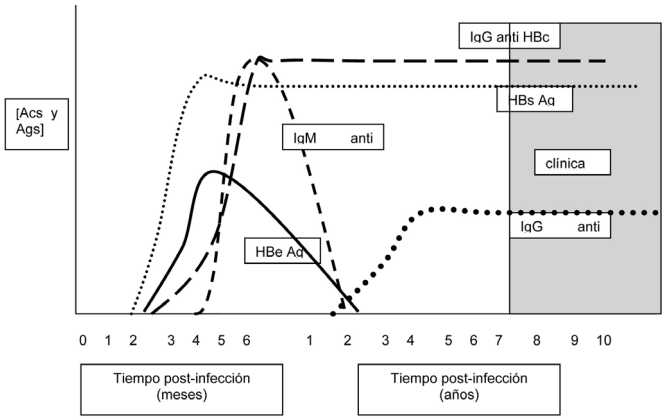


Figura 3. Marcadores serológicos de una hepatitis B crónica asintomática

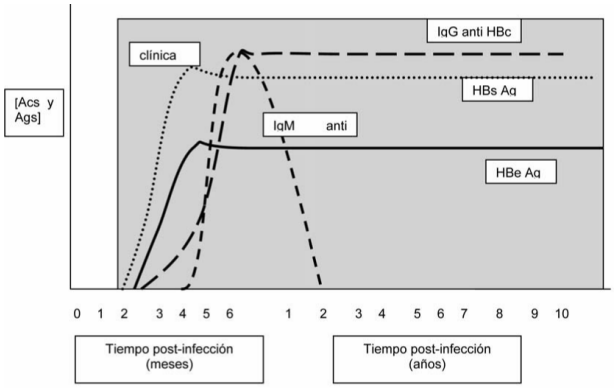


Figura 4. Marcadores serológicos de una hepatitis B crónica activa

Virus de Hepatitis C (VHC)

El agente infeccioso

El Virus de Hepatitis C (VHC) pertenece a la familia Flaviviridae, incluido en el género Hepacivirus y posee seis genotipos. Este agente de forma esférica, mide 55-65 nm con un core interno de 30-35 nm. Alrededor de la envoltura viral se observan finas proyec-ciones espiculadas. Su genoma es de tipo ARN, lineal y de polaridad positiva.

Epidemiología (distribución, reservorios, susceptibilidad)

Reservorio: constituido por los enfermos de hepatitis C y por los infectados crónicos asintomáticos, cuyo número se estima en más de 200.000.000 en todo el mundo.

Fuente de infección: el virus se transmite a través de la sangre y sus derivados.

Vías de transmisión: la principal vía de transmisión es la parenteral. Sin embargo, en un porcentaje de individuos infectados, que podría alcanzar al 15-40 %, se desconoce la fuente y vía de transmisión.

Tanto la transmisión sexual como la vertical son poco frecuentes, pero en mujeres co-infectadas con VIH ambas vías se incrementan.

Prevalencia: la seroprevalencia es variable según las diferentes áreas geográficas, mostrando regiones de alta y baja endemicidad. La seroprevalencia en hemodonantes es del 6% en África y países asiáticos. En los países desarrollados la prevalencia en la población general es inferior al 3% y en Argentina es aproximadamente del 1%.

Patogénesis

El VHC replica en el citoplasma de hepatocitos pero también infecta células linfomono-nucleares (linfocitos B y macrófagos). La inmunopatogénesis de VHC es poco conocida, se cree que el daño hepático es mediado por la respuesta inmune del hospedero; no hay evidencias de que el VHC sea citopatogénico.

El período de incubación puede variar desde 5 semanas a 10 semanas. Las manifes-taciones clínicas de la primoinfección son de comienzo insidioso, al igual que las otras hepatitis virales. Se caracteriza por dolor epigástrico, anorexia, astenia, hepatomegalia y a veces esplenomegalia. El nivel de transaminasas raramente excede 10 veces los límites normales y es común comprobar varios ascensos y descensos tipo "yo-yo".

La infección posee tres formas patogénicas: aguda, crónica y fulminante.
Durante la infección aguda, al ARN está presente en el suero o plasma dentro de la pri-mera y segunda semana posteriores a la exposición, semanas antes de la elevación de las transaminasas (ALT) o de la aparición de los anticuerpos anti VHC. La seroconver-sión ocurre a las 8-9 semanas. Los anti-VHC pueden detectarse a las 15 semanas en el 80% de los infectados, a los 5 meses en el 90% y a los 6 meses en el 97%. (Figura 1).
Durante la infección crónica la viremia (ARN-VHC) persiste durante toda la vida, los niveles de ALT se encuentran elevados en forma irregular y los anticuerpos anti VHC permanecen a niveles detectables (Figura 2).
Complicaciones: La consecuencia más grave de la persistencia de la infección por el VHC es el desarrollo de formas crónicas, que se presentan en más del 80% de las personas infectadas. Aproximadamente el 20% de los casos crónicos evoluciona a fibro¬sis y cirrosis hepática y entre el 1% y 5% progresa a hepatocarcinoma celular. Las formas fulminantes son muy raras.

Diagnóstico microbiológico
El diagnóstico etiológico de la infección se sustenta en pruebas serológicas que detec-tan anticuerpos circulantes (método indirecto) y en la determinación de secuencias genómicas del VHC.
Las pruebas serológicas identifican sólo la presencia de anticuerpos anti VHC, indican exposición al virus pero no diferencian entre infección aguda, crónica o resuelta. En una primera etapa, se detectan los Anticuerpos específicos por ELISA. Esta prueba se denomina de tamizaje (alta sensibilidad y buena especificidad), debiendo ser confirmada por tests suplementarios. Estas pruebas poseen una alta especificidad y buena sensibilidad y confirman la presencia de anticuerpos específicos, eliminando los resultados falsos negativos. Las pruebas confirmatorias para VHC se denominan Recombinant Immuno Blotting Assay (RIBA) y Linear Immune Assay (LIA).
Las técnicas de biología molecular para la investigación de la presencia del genoma del VHC están indicadas especialmente en las siguientes situaciones:

1-Hepatitis C aguda.
2-Monitoreo de terapia antiviral.
3-Detección de infección en inmunosuprimidos.
4-Confirmar la especificidad de una serología positiva en una prueba de tamizaje.
5- Para discriminar entre una infección aguda o crónica de una infección resuelta.

Es necesario tener en cuenta que existen tres patrones diferentes de viremia: a) aguda fugaz; b) crónica persistente y c) crónica intermitente. Por lo tanto un resultado negativo de ARN-VHC en una persona reactiva por ELISA no es válido. La detección del genoma debe ser realizado nuevamente. De este modo la ausencia repetida de ARN-VHC indica eliminación viral.
Prevención: Dado que no existe aún una vacuna eficaz y segura, la prevención con-siste en evitar la exposición al virus.
Entre las medidas más eficaces se cuentan:

1-Autoexclusión de hemodonantes con riesgo.
2-Tamizaje serológico para VHC en bancos de sangre.
3-Tratamiento virucida en hemoderivados.
4-Apropiado uso de la sangre.
5-Campañas de educación que limiten el inicio a la drogadependencia.
6-No compartir agujas y jeringas entre usuarios de drogas por vía endovenosa.

Por tratarse de un virus envuelto, los detergentes, los solventes lipídicos y la radiación ultravioleta son útiles para lograr su inactivación e impedir su transmisión por sangre.

Tratamiento
Los pacientes con hepatitis C crónica son actualmente tratados con interferón alfa. Aproximadamente la mitad de los pacientes responden favorablemente a este trata-miento.
Otro estudios han planteado la posibilidad de realizar una terapia combinada con ribavirina (interferón alfa + ribavirina), aumentado los porcentajes de respuesta favorable a la terapia (mayor a un 60%).
Cuando se inicia el tratamiento antiviral es importante tener en cuenta el estado general del paciente, el nivel de viremia basal y el genotipo viral.

Figura 1. Patrón serológico de la infección aguda por VHC.

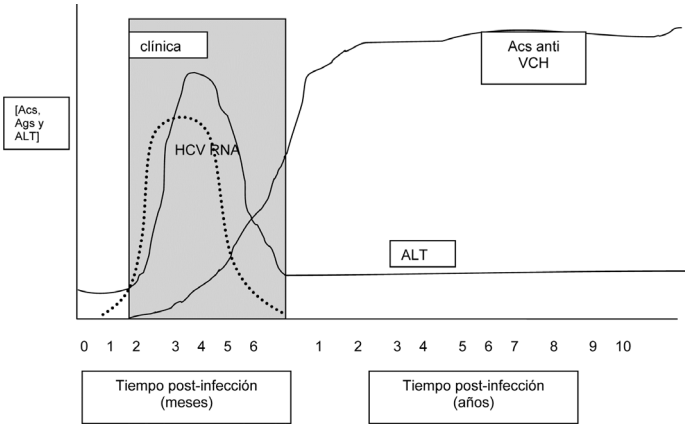
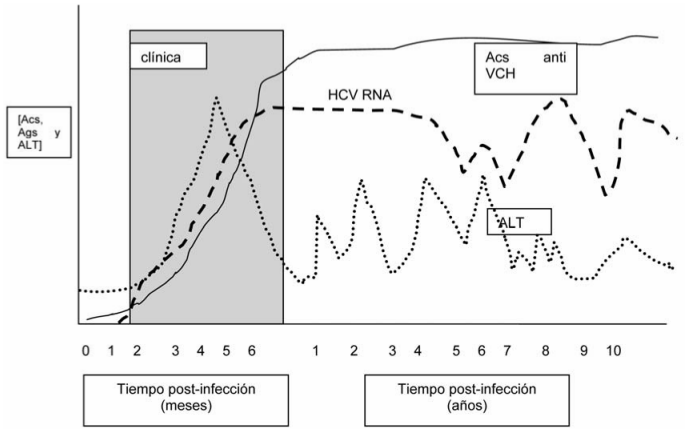


Figura 2. Patrón serológico de la infección crónica por VHC



Virus de Hepatitis D (VHD)

El agente infeccioso

El virus de hepatitis D posee forma esférica, mide 36 nm de diámetro y su genoma es ARN de polaridad negativa. Este es un virus cuya organización estructural necesita de la colaboración del VHB. Se ha demostrado que la cubierta exterior del VHD corresponde al VHB. Hacia el interior de ella se ubican las proteínas del core. La principal se denomina antígeno delta HD Ag. Es un virus defectivo que depende de la replicación del VHB para poder infectar y replicarse.

Epidemiología

Vías de transmisión: en la naturaleza el virus se transmite como el VHB.

Prevalencia: El VHD es prevalerte en zonas endémicas del VHB como Asia, África y Amazonia. Se ha notado un incremento de la penetración en comunidades con prácti-cas de riesgo, como los drogadictos intravenosos en Europa Central y en grandes ciu-dades de América. Existe un reservorio importante en América Latina (Brasil, Venezuela, Colombia y Perú).

Patogénesis

La patogenia de la infección por VHD se relaciona con el hecho de que el paciente esté o no previamente infectado con el VHB. Como resultado pueden originarse dos situaciones:

1) coinfección con VHB y VHD.

2) super infección con VHD en un individuo con infección activa con VHB.

En este último caso, a su vez, la superinfección puede producirse ante tres circunstancias:

a) en un paciente que cursa una hepatitis aguda.

b) en un portador crónico de VHB.

c) en un paciente con hepatitis crónica por VHB.

La coinfección VHB-VHD en un individuo no inmune contra el VHB es habitualmente autolimitada. El rango de cuadros detectables comprende desde infecciones inaparentes hasta hepatitis fulminantes (excepcionales).

La superinfección con VHD en un paciente con hepatitis aguda por VHB agrava las manifestaciones clínicas y puede progresar a la cronicidad.

En un portador crónico asintomático de VHB la superinfección con VHD puede desencadenar la sintomatología de una hepatitis aguda.

La superinfección con VHD en un paciente con hepatitis crónica puede agravar la severidad de la enfermedad.

Los marcadores serológicos de una coinfección y una superinfección se grafican en las figuras 1 y 2.

Diagnóstico microbiológico

La sospecha de la infección por VHD ocurre ante un proceso de reactivación y agravamiento en una hepatitis crónica, frente a una evolución tórpida de ésta o ante la pre-sentación de una hepatitis aguda, que puede ser o no fulminante, en un portador cró-nico de HBs Ag.

La detección del antígeno delta, en suero, mediante ELISA es dificultosa debida a la fugacidad de su presencia y a la necesidad del tratamiento con detergentes no iónicos para lograr la disrupción del HBs Ag. Los niveles de antigenemia son variables durante la infección aguda mientras que durante la etapa crónica son raramente detectados.

La detección de anticuerpos IgM para VHD permite diferenciar una infección actual de una anterior por

este virus. Se detecta al cabo de 10-25 días de aparición de la hepatitis delta aguda y puede persistir por años en individuos infectados crónicamente.
En el caso de portadores asintomáticos de VHB, donde se detecta un episodio de hepatitis aguda, es muy importante el diagnóstico diferencial con una hepatitis aguda por VHB, si es que se ignora la historia previa de portación viral en el paciente. Para ello es necesario solicitar la detección de IgM anti HBcore ya que su sola presencia indicará una hepatitis aguda por VHB. El diagnóstico final se podrá obtener mediante detección sérica de IgM anti VHD o biopsia hepática en busca del antígeno delta.
La aplicación de técnicas moleculares ha permitido establecer pruebas más sensibles para determinar el diagnóstico de infección activa por VHD, mediante la detección de ARN-VHD en suero o en hígado.

Tratamiento y prevención
Se acepta que la presencia de anticuerpos anti HBs en la inmunoglobulina hiperinmune para hepatitis B protege pasiva y transitoriamente de la infección por VHD, ya que ambos virus comparten los antígenos de su cubierta exterior.
Aunque no existe una vacuna específica para el VHD, la utilización de la correspondiente al VHB induce la formación de anticuerpos anti HBs que confieren protección frente al ingreso del VHD.
Lamentablemente, esta vacuna no puede ser aplicada al grupo de mayor riesgo de contraer la infección por VHD (los aproximadamente 300.000.000 de portadores crónicos de VHB); ya que no es efectiva.

Virus de Hepatitis E (VHE)
El agente infeccioso
El VHE se relaciona, al secuenciar su genoma, con la familia Caliciviridae, aunque todavía no hay una definición al respecto. Las partículas miden 27-34 nm de diámetro y consisten en una estructura esférica de simetría icosaédrica sin envoltura que contiene ARN de polaridad positiva.
Se trata de un virus lábil a la congelación y descongelación. Su integridad se conserva a -135ºC en tanques de nitrógeno líquido.

Epidemiología (distribución, reservorios, susceptibilidad)
La prevalencia es regional.
La vía de transmisión es fecal-oral, a través de agua y alimentos contaminados.

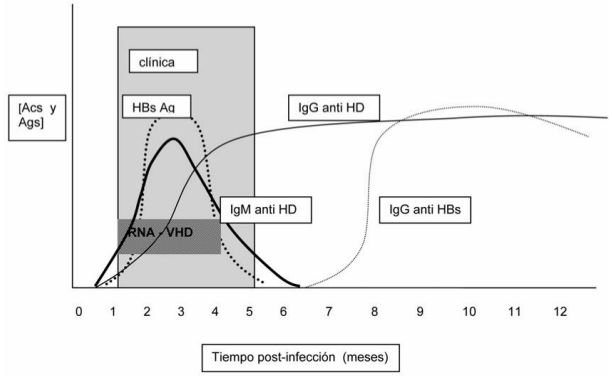


Figura 1: Marcadores serológicos de una coinfección por virus de hepatitis D

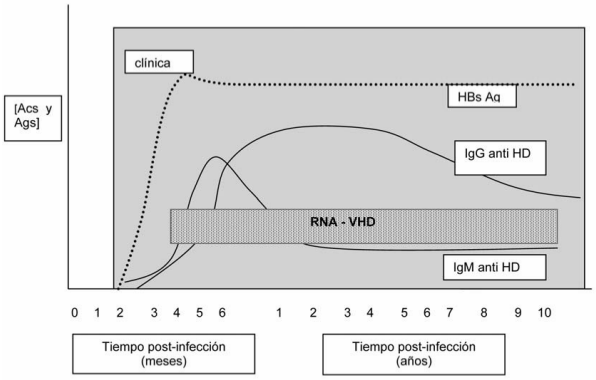


Figura 2: Marcadores serológicos de una superinfección por virus de hepatitis D

En la población general la mortalidad es del 0,5 % al 3%. Este porcentaje aumenta significativamente en embarazadas en donde alcanza aproximadamente un 20%. Otro aspecto llamativo de la epidemiología de la infección por este virus es la baja tasa de ataque secundario en convivientes.

Patogénesis
Produce una enfermedad muy parecida a la hepatitis A, si bien tiene un curso más grave y de mayor mortalidad.
No evoluciona a cronicidad ni deja secuelas.

Diagnóstico microbiológico
Se realiza actualmente mediante ensayos inmunoenzimáticos para detectar anticuerpos (ELISA y Western Blot).
El diagnóstico de infección aguda por VHE se sustenta habitualmente en la detección de IgG específica en una única muestra. La respuesta a IgM detectable por la mayoría de los equipos comerciales es variable, y no se detecta en muchos casos a pesar de la elevación en el título de IgG que se asocia a la exposición fren-

te al VHE. Llamativamente, se ha observado que el título detectable de anticuerpos anti-VHE es bastante transitorio (Figura 1). La detección de partículas virales en heces y suero por RCP no resulta práctica en un examen de rutina, pero sí puede dar información en la epidemiología del VHE.

Prevención

Actualmente la única medida apropiada es evitar el contacto con el virus. La inmunización pasiva con gammaglobulina no es efectiva, probablemente debido, al bajo título de anticuerpos específicos detectados en los hemodonantes con cuyo plasma se prepara.

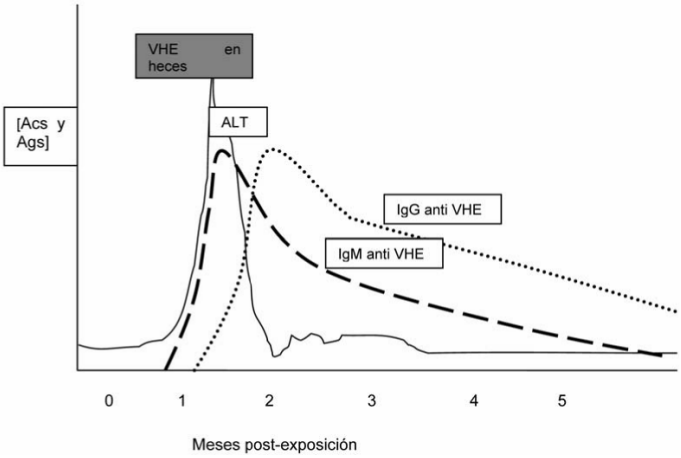


Figura 1 Cinética de antigenos y anticuerpos en función del tiempo.

Virus Productores de Gastroenteritis Virales

En países del tercer mundo mueren 4 millones de niños cada año por enfermedades diarreicas. Las infecciones por Rotavirus en niños mal nutridos contribuyen de un modo particular a estas estadísticas.

Los virus que pueden ingresar al ser humano por vía del tracto alimentario son muchos, pertenecen a diferentes familias y pueden ser o no, agentes causales de gastroenteritis.

Los agentes etiológicos virales de enfermedad diarreica son en orden de frecuencia:

Familia	**Géneros - Especies**
· Reoviridae	**Rotavirus**
· Adenoviridae	**Adenovirus serotipos 40 y 41**
· CaliciviridaVirus	**Norwalk y otros relacionados**

El tracto gastrointestinal está protegido de agentes patógenos por diferentes mecanismos: el mucus que contiene Ig A secretoria, el pH del estómago. La bilis así como enzimas proteolíticas. El constante movimiento del tracto digestivo, sin embargo, le provee al virión la posibilidad de adherirse a sus receptores específicos.

Diagnóstico microbiológico:

Muestra clínica: La materia fecal tiene limitaciones ya que muchos virus entéricos responsables de gastroenteritis no son cultivables.

Las muestras de hisopado rectal o material fecal deben conservarse en frío y se puede realizar diagnóstico rápido por ELISA (detección de ácidos nucleicos o antígenos virales).

Características de algunos agentes

Rotavirus

Los principales agentes etiológicos responsables de gastroenteritis virales pertenecen a los Rotavirus. Este género se encuentra dentro de la familia Reoviridae, cuyo nombre es una sigla (Respiratory Enteric Orphan Virus) que provienen de su aislamiento en el tracto respiratorio y entérico, no asociado en aquel entonces a enfermedad alguna (Orphan: huérfana). La denominación Rotavirus (Rota: rueda) está dada por su morfología característica.

Estos agentes infectan al hombre y a numerosas especies animales como monos, rato-nes, cerdos, cabras, gatos, perros, gallinas.

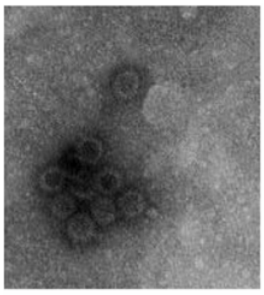
Entre el 19 al 34% de las diarreas agudas están asociadas a Rotavirus, sobre todo en los meses invernales. Los niños menores de un año son la población más suscep-tible a la infección y en su mayoría no posee anticuerpos. Se infectan por primera vez y presentan el pico de las diarreas provocadas por Rotavirus. Los niños mayores de un año pueden reinfectarse de modo asintomático. De este modo, jóvenes y adultos actúan como reservorios de la infección

La vía fecal-oral es el modo de transmisión debido a la enorme concentración de par-tículas que se eliminan en materia fecal, es común la contaminación de manos y otras superficies contaminadas y por adultos infectados asintomáticos. Estos agentes han sido descriptos como agentes causales de brotes de diarrea en orfanatos, guarderías, e infecciones intrahospitalarias.

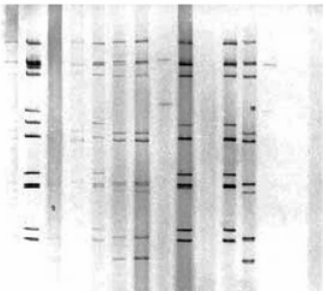
Luego de un período de incubación de 24 horas aparecen fiebre, vómitos y diarrea.

Los Rotavirus infectan las células del borde apical de la vellosidad intestinal ocasio-nando un acortamiento y fusión de las mismas. La superficie de absorción

está disminuida produciéndose una acumulación de fluidos en el lumen del intestino y diarrea (diarrea por mala absorción). Sin embargo, las últimas publicaciones aportan elementos para pensar en un mecanismo toxigénico. Una proteína viral (NSP4) podría disparar un mecanismo de señalización en membranas (GTP - GMPc) produciendo un aumento del calcio intracelular y la secreción de iones cloro.
La desnutrición en el infectado aumenta la morbimortalidad de esta infección.
La infección es autolimitada, se resuelve entre 5 a 8 días espontáneamente sin mediar ningún otro tratamiento más que la terapia de hidratación que reponga los fluidos perdidos.



Rotavirus, tinción negativa



Electroforesis en geles de poliacrilamida, diferentes electroferotipos de rotavirus

Adenovirus
Son virus no envueltos con ADN linear de doble cadena, pertenecientes a la Familia Adenoviridae (adeno: glándula) que pueden infectar la faringe, la conjuntiva, la uretra, la vejiga, el riñón o el intestino, dependiendo del serotipo. Causan de este modo infecciones genitourinarias y entéricas: la mayoría de las cuales son subclínicas. Se reconocen 47 serotipos de adenovirus. Los serotipos 40 y 41 infectan la mucosa del intestino delgado y son agentes etiológicos de gastroenteritis.
Le siguen en frecuencia a los Rotavirus como agentes causales de diarrea infantil.
Estos serotipos no son cultivables. Se transmiten de persona a persona.

Virus Norwalk
El virus adquiere el nombre de un pueblo llamado Norwalk (Ohio, Estados Unidos) que tuvo una epidemia de gastroenteritis en 1972, a partir de la cual se aisló el agente. El virus pertenece a la Familia Caliciviridae. A diferencia de los otros agentes estudiados la enfermedad diarreica que causa afecta a niños mayores y adultos. El modo de transmisión es por contacto de persona a persona, y se transmite por agua, comidas frías, mariscos crudos y aerosoles.

El mejoramiento de las condiciones sanitarias, la educación sanitaria y la correcta alimentación de la población infantil contribuirán a disminuir la morbilidad-mortalidad de la diarrea infantil.

Bibliografía general

• Abbas Abul, K., Lichtman, A., Pober Jordan S. 1995. Inmunología celular y molecular. Ed. Interamericana Mc Graw-Hill. Madrid, España.

• Acha, P.N., Szyfres, B. 1977. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Organización Panamericana de la Salud. Washigton DC, Estados Unidos.

• Andahazi, Federico. El conquistador.- Buenos Aires: Planeta, 2007. 288 p.; 21x14 cm. ISBN950-49-1599-X. 1. Narrativa Argentina-Novela I.

• Baron, E. et al. Diagnostic microbiology. 1994. 9.ed. Missouri: Mosby, Madrid, España.

• Basualdo, J; Coto, C y de Torres, R. Microbiología Biomédica. 2006. Editorial Atlante. 2º Ed.

• Bauer A W, Kirby W M M, Sherris J C & Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Amer. I. Clin. Pathol. 1966: 45:493-6.

• Betancor L; Gadea MP; Flores, K, Genética Bacteriana. In: Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina (Org.). Temas de Bacteriología y Virología Médica. Ed. 3, Montevideo, Oficina del Libro FEFMUR, 2008, v. 1, p. 65-90, ISBN: 9974312098 Áreas del conocimiento: Ciencias Médicas y de la Salud/Ciencias de la Salud/Enfermedades Infecciosas. ISSN/ISBN: 9974-3120 2.

• Brock, T.D. 1975. Milestones in Microbiology. ASM press. Washington DC, USA.

• Cannistraci, R., Giayetto, V. y col. 1999. Tras las Huellas de un Mundo Invisible. Ed. Cosmos. Córdoba, República Argentina.

• Carballal, G., Oubiña, J. 1998. Virología Médica. El Ateneo. Buenos, República Argentina.

• Cortázar, J. 1963. Rayuela. Pantheon Books. Editorial Sudamericana, Buenos Aires, Argentina.

• Cueto, M. La microbiología en el diagnóstico de la infección del tracto Urinario. Ed. Salvat en: 2013. Pigrau, C. Infección del tracto Urinario.

• de Kruif, P. 1938. Los Cazadores de Microbios. Ed. Claridad. 1ra. Edición. Buenos Aires, República Argentina.

• Díaz R., Gamazo C., López-Goñi I. Manual Práctico de Microbiología. 1999. 2ª Edición Ed. Masson.

• Dunne, Michael. Bacterial Adhesion: seen any good biofilms lately? Clin Micr Rev. 2002: 15: 155-166.

• Escardó, F (Piolín de Macramé). 1966. ¡Oh! Ed. Americalee. 2ª Ed.

• Evans, A. Kaslow, R. 1997. Viral Infections of Humans. Epidemiology and Control. Plenum Medical Book Co. 3rd. edition. New York, USA.

• Evans, A., Brachrman, P. 1998. Bacterial Infections of Humans. Epidemiology and Control. Plenum Medical Book Co. 3rd. edition. New York, USA.

• Fainboim, Geffner. Introducción a la Inmunología Humana. 2005. Panamericana. 5º Ed. Madrid, España.

• Finegold, S., Baron, E. 1989. Bailey & Scott Diagnóstico Microbiológico. Ed. Panamericana. 7ma. Edición. Buenos Aires, República Argentina.

• Forbes, B., Sahm, D. et al. 2009. Bailey & Scott Diagnóstico Microbiológico. Ed. Panamericana. 12va. Edición. Buenos Aires, República Argentina.

• Gárcia Márquez, G. El amor en los tiempos del cólera. 1985. Penguin Ed.

• García-Rodríguez, J.A., Picazo, J.J. 1996. Microbiología Médica de E.J. Perea. Mosby. Madrid, España.

• Garza Velasco, R., Ávalos González, J. y col. 2000. Profesores al Día: Principales Factores Bacterianos que Promueven la Colonización e Invasión de los Tejidos Humanos. Educación Química 11 (2): 274-283.

• Gladwin, M y Trarrler, B. Clinical Microbiology (made ridiculously simple) 1999. 2ª Edición. MedMaster, Inc. P.O. Box 640028. Miami, FL 33164.

USA. (270 páginas).
• http://www.msal.gov.ar/index.php/component/content/article/46-ministerio/184-calendario-nacional-de-vacunacion-2014

• Jawetz et al. Microbiología Médica. Editorial Mc Graw Hill. 25ª Ed. 2010.

• Jenkinson HF, Lamont RJ. Oral Microbial Communities in sickness and in health. Trends in Microbiology. 1997: 13: 589-595.

• Johnson, R. 1998. Viral Infections of the Nervous System. Lippincott-Raven. 2nd. Edition. Philadelphia, USA.

• Joklek, W., Willet, H. y col. 1998. De Zinsser Microbiología. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. 2º Ed.

• Krauss, H., Weber, A.et al. 2003. Zoonoses. Infectious Diseases Transmissible from Animals to Humans. 3rd Edition, 456 pages. ASM Press. American Society for Microbiology, Washington DC, USA.

• Le Duc, J. 1996. WHO Strategy for Emergencing Infectious Diseases. JAMA 275: 318-320.

• Littvik, A y col. 2008. Tras las Huellas de un Mundo Invisible. Sima Editora 4ª Ed. Córdoba, República Argentina.

• Madigan, M et al. 2003. En: Brock Biología de los Microorganismos. Pearson Educación. 10ª Ed.

• Marco del Pont, J. 2004. Calendario de Vacunación en Argentina. Arch. Argent. Pediatr. 102 (1): 5-7.

• Mims, BC. Microbiología Médica. 2002. 2ª Edición. Mosby (Elsevier Science), Madrid, España.

• Moreno, C et al. Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello. 2009: v. 69 n.2 Santiago, Chile.

• Murray P., Kobayashi G., Pfaller M., Rosenthal K. 2006. Microbiología Médica. Ed. Mosby (Elsevier Science). Amsterdan. 5ª Ed.

• Murray, P., Baron, E. et al. 1999. Manual of Clinical Microbiology. ASM press. 7th. Edition. Washington DC, USA.

• Nates S., Pavan J.V. 1998. Virología, Uma Propuesta para Facilitar su Aprendizaje. Ed. Cosmos. 2da. Edición. Córdoba, República Argentina.

• Nathanson, N, Ahmed, R. et al. 1997. Viral Pathogenesis. Lippincott-Raven. Philadelphia, USA.

• Negroni, M. 2009. Microbiología Estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. 2º Ed.

• Nugent, RP et al. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. J Clin Microbiol. 1991 Feb; 29(2): 297–301.

• O' Toole, G et al. Annu Rev Microbiol. 2000: 54:49-79.

• OMS. 1982. Zoonosis bacterianas y víricas. Organización Mundial de la Salud. Ginebra, Suiza.

• OMS.1979. Zoonosis parasitarias. Organización Mundial de la Salud. Ginebra, Suiza.

• OPS. Enfermedades Infecciosas Nuevas, Emergentes y Reemergentes. Bol. Epidemiol. 1995: 16 (3): 1-7.

• Parrish, R.B. Zoonoses: Animal Diseases and Man. Prof. Saf. 1979: 24: 15-17.

• Penié, J, González-Piñera, J y col. 1998. Medicamentos Antivirales. Acta Médica 8 (1): 86-100.

• Pérez Arellano, J.L., Blasco Canut, A. y col. 1996. Guía de Autoformación en Enfermedades Infecciosas. Ed. Panamericana. Madrid, España.

• Prats, G. Microbiología, Virología y Parasitología. 2013. Ed. Panamericana. EAN: 9788498356885. Madrid, España.

• Prats, G. Microbiología Clínica. 2006. Editorial Panamericana. Madrid, España.

• Prescott, L et al. Microbiología. 2004. Editorial McGraw-Hill, 5ª Ed.

• Pumarola, A; Rodríguez-Torres, A y col. 1984. Microbiología y Parasitología Médica. Ed. Salvat. Barcelona, España.

• Pumarola, A; Rodríguez-Torres, A y col. 1986. Microbiología y Parasitología Médica. Ed. Salvat. Barcelona, España

• Regueiro González y col. 2010. Inmunología. Biología y Patología del Sistema Inmunitario. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires. 4º Ed.

• Roitt, I et al. 2003. Inmunología: Fundamentos. Editorial Panamericana. 10ª Ed. Madrid, España.

• Roitt, I. 1998. Inmunología. Fundamentos. Ed. Panamericana. 9ª Edición. Madrid, España.

• Romero Cabello, R. 2007. Microbiología y Parasitología Humana. Editorial Panamericana, 3º Ed. México.

• Ryan, K. et al. En: Sherris Microbiología Médica. 2011. Editorial McGraw-Hill, 5ª Ed. USA.

• Salyeers, A y Andwhitt, D. Bacterial Pathogenesis. 1994. American Society from Microbiology, 1325 Massachusetts Avenue, N.W., Washington, DC 20005.

• Schmidt, H. and Hensel, M. 2004. Pathogenicity Islands in Bacterial Pathogenesis. Clin. Microbiol. Rev. 17 (1): 1-14.

• Soc. Esp. de Enf. Infec. y Microbiol. 2006. Clín. Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Madrid, España. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Ed. Panamericana. © 2006 EAN: 9788479039219

• Suárez, C y Gudiol, F. 2009. Antibióticos betalactámicos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2009: 27:116-29.

• Tortora, G. et al. Microbiología. 2007. Editorial Panamericana, 9ª Ed.

• Trousseau A. Clinique Médicale de l'Hotel Dieu de Paris. Deuxiéme éd. J-B. Baillière et fils, Libraires de l'Academie Impériale de Médecine, Paris 1865; II: 413-33.

• Tuseta, M., Martín-Condea, M. y col. 2003. Características de los Fármacos Antivirales. Enf. Infecc. Microbiol. Clin. 21(8): 433-458.

• Varela, G. Fisiología y Metabolismo Bacteriano. In: Departamento de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina (Org.). Temas de Bacteriología y Virología Médica. Ed. 3, Montevideo, Oficina del Libro FEFMUR, 2008, v. 1, p. 65-90, ISBN: 9974312098 Áreas del conocimiento: Ciencias Médicas y de la Salud/Ciencias de la Salud/Enfermedades Infecciosas. ISSN/ISBN: 9974-3120 2.

• Vázquez, D. (1986): Biosíntesis del peptidoglucano: mecanismos de acción y selectividad de los antibióticos inhibidores. En: Bioquímica y Biología Molecular (Coordinador: L. Cornudella). Salvat, Barcelona, págs. 133-140.

• Walker, TS. Microbiología. 2000. McGraw-Hill Interamericana (513 páginas).

• Warny, M et al. Toxin production by an emerging strain of Clostridium difficile associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe. Lancet. 2005 Sep 24-30;366(9491):1079-84.

• Weissembacher, M; Salvatella, R y Hortal, M. 1997. El desafío de las enfermedades emergentes y reemergentes. En: http://www.smu.org.uy/publicaciones/rmu/1998v1/h-weiss.

• White, D (1995): "The physiology and biochemistry of Prokaryotes". Oxford University Press, Nueva York y Oxford. Capítulo 10.

• WHO. 1996. Network on Antimicrobial Resistance Monitoring. Weekly Epidemiol. Rec. 71: 185-187.
WHO. 2013 Tuberculosis: en http://www.who.int/entity/tb/challenges/mdr/mdr_tb_factsheet.pdf?ua=1.