

# 21 Bacterias anaerobias

C. Rivas, M. Mota

## Introducción

La presencia de una atmósfera terrestre rica en oxígeno permitió a los seres vivos evolucionar desarrollando un metabolismo aeróbico, el cual se caracteriza por ser una forma muy eficiente de obtención de energía. Las bacterias anaerobias precedieron largamente a las aeróbicas y sin duda, predominaron largamente en un mundo vivo que comenzaba a desarrollarse.

El reconocimiento de la naturaleza anaerobia de determinados microorganismos se acredita a Pasteur, quien en 1863 observó que la motilidad de ciertas bacterias desaparecía con la exposición al aire.

El conocimiento sobre las bacterias anaerobias es poco y relativamente reciente, ya que para poder lograr condiciones de anaerobiosis en el laboratorio se necesitaban, hasta los años 60, equipos costosos y técnicas bacteriológicas muy dificultosas. A partir de la introducción de sistemas simples para producir anaerobiosis con equipos y reactivos de bajo costo, el conocimiento de los anaerobios se desarrolla intensamente. Aun así, no hay un gran número de microbiólogos que se dediquen al tema, la taxonomía está en permanente revisión e infinidad de aspectos se mantienen oscuros.

## Definiciones

Anaerobios son aquellos gérmenes que sólo pueden desarrollarse en ausencia de cantidades significativas de oxígeno ( $O_2$ ) y bajo condiciones de potenciales redox (Eh) muy reducidos, por tanto son estrictos en cuanto a sus exigencias de medio ambiente. Las formas vegetativas mueren cuando son expuestos al oxígeno molecular libre en la atmósfera, aunque el grado de resistencia bajo estas condiciones es variable (aerotolerancia). Los esporos bacterianos no son afectados por tratarse de formas biológicas metabólicamente inertes y con muy escasa proporción de agua en su composición.

Si bien se considera bacteria anaerobia aquel germen que puede crecer sólo en ausencia de oxígeno, la sensibilidad frente al oxígeno varía ampliamente de una especie a otra. Así, distinguimos bacterias microaerófilas, aerotolerantes y anaerobios estrictos u obligados. Las bacterias microaerófilas resultan dañadas por niveles altos de oxígeno como el atmosférico (21%) y requieren niveles bajos de  $O_2$  para crecer, en el rango de 2 a 10%. Anaerobios aerotolerantes son aquellos microorganismos que toleran exposiciones breves al oxígeno atmosférico desarrollando óptimamente en condiciones anaerobias. Los anaerobios estrictos no toleran

el oxígeno y mueren en su presencia, por tanto sólo desarrollan en condiciones anaerobias; (de aquí en adelante los denominaremos simplemente anaerobios).

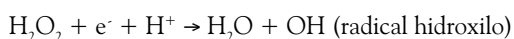
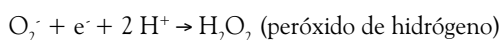
### Potencial de óxido-reducción

El potencial de óxido-reducción (Eh) de una pareja redox es la medida en voltios de la tendencia espontánea a donar o recibir electrones por parte de uno de los integrantes de la pareja (flujo de electrones). Una pareja redox posee una forma reducida (dador de electrones) y una forma oxidante (receptor de electrones): reductor <---> oxidante + electrones.

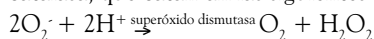
En consecuencia cuanto menor sea la cantidad de formas oxidantes menor o más bajo será el potencial redox. Es por esto que el oxígeno debe ser eliminado imprescindiblemente del microclima de desarrollo de las bacterias anaerobias (O<sub>2</sub> atmosférico y en solución), ya sea en los medios de cultivo o en el medio natural. Aún más, el descenso del potencial de óxido-reducción debe afirmarse con la presencia en el medio de sustancias reductoras que superen en gran número a las oxidantes.

### Oxígeno sensibilidad

Si bien el oxígeno es potencialmente tóxico para cualquier forma de vida, los anaerobios son intolerantes al mismo aunque en diferentes grados. Existe un espectro que va desde los extremadamente intolerantes (aerointolerantes) hasta los aerotolerantes moderados los cuales pueden sobrevivir a la presencia de O<sub>2</sub> durante breves períodos. Esta diferente relación con el oxígeno parece deberse a varios factores. En primer lugar, el oxígeno es un poderoso agente oxidante, es decir, un ávido receptor de electrones, por lo tanto su presencia en solución es incompatible con potenciales redox bajos. En esta situación el flujo de electrones se ve interferido por un receptor extraño al usual de los gérmenes provocando *shunts* letales. En segundo lugar, el oxígeno puede interactuar directamente con enzimas o cofactores, a través de la oxidación de grupos químicos sensibles (por ej.: sulfhidrilos), causando inactivaciones irreversibles. En tercer lugar y aparentemente, la causa más importante de la oxígeno-toxicidad, se atribuye a la producción de sustancias tóxicas derivadas de la reducción parcial de la molécula de O<sub>2</sub>. Estos productos son el radical superóxido, peróxido de hidrógeno y radical hidroxilo:



Estos productos son extremadamente tóxicos porque son agentes oxidantes poderosos y provocan destrucción de constituyentes celulares rápidamente. Los neutrófilos y macrófagos utilizan estos productos tóxicos del O<sub>2</sub> para destruir los patógenos invasores. Muchos microorganismos poseen enzimas que los protegen de estos productos tóxicos del oxígeno. Las bacterias aerobias y las facultativas poseen las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y catalasa, que catalizan las siguientes reacciones respectivamente:



Los microorganismos aerotolerantes pueden carecer de catalasa pero la mayoría tiene SOD; más aún, las SOD han sido postuladas como factores de virulencia en los anaerobios, ya que estas enzimas permitirían la supervivencia de las bacterias en tejidos oxigenados hasta que el consumo de oxígeno determina el ambiente adecuado para la multiplicación y desarrollo. Los anaerobios estrictos carecen de ambas enzimas o las tienen en bajas concentraciones y por eso no toleran el oxígeno.

## Generalidades

### BIOLOGÍA DE LOS MICROORGANISMOS

Los anaerobios en general poseen un metabolismo de tipo fermentativo, en el cual las sustancias orgánicas son los aceptores finales de electrones, aunque también pueden obtener energía a partir de la respiración anaerobia. Otras características comunes a los microorganismos anaerobios son sus requerimientos nutricionales complejos, su lento crecimiento y su labilidad, lo cual, sumado a sus requerimientos atmosféricos estrictos (de  $O_2$  y  $CO_2$ ) hace que su aislamiento sea difícil; además, al ser la mayoría de las infecciones mixtas (aerobios y anaerobios) otros microorganismos menos exigentes y de crecimiento más rápido pueden crecer e inhibirlos si no se toman las precauciones necesarias.

Los plásmidos están ampliamente difundidos entre los anaerobios especialmente a nivel de especies de *Clostridium* y *Bacteroides*. Un muy buen porcentaje de estos elementos no han demostrado funciones específicas. Entre los plásmidos funcionalmente conocidos encontramos:

- Plásmidos que codifican la producción de bacteriocinas. Similares a las colicinas, son producidas por especies de *Clostridium* y *Bacteroides*.
- Plásmidos toxigénicos, ampliamente distribuidos entre las especies de *Clostridium* productoras de exotoxinas (toxigénicas). La correlación fehaciente entre plásmido y producción de toxina no se ha podido establecer en muchos casos. El caso con más evidencia de la relación plásmido-toxina es el de *Clostridium tetani* donde puede afirmarse que la toxina tetánica está codificada en un plásmido.
- Plásmidos que codifican la resistencia a los antibióticos. Existen evidencias de que entre diferentes especies de *Clostridium*, *Bacteroides* y cocos anaerobios existen plásmidos de diferente tamaño que codifican la resistencia a macrólidos, tetraciclinas y cloramfenicol.

### FACTORES DE VIRULENCIA

Se pueden separar en dos categorías según su importancia. Por un lado existen las poderosas toxinas producidas por los clostridios; por otro, una serie de estructuras y sustancias de mucho menor poder patógeno que se observan en varias especies de microorganismos no esporulados. Se conocen los lipopolisacáridos de superficie de varias especies de *Fusobacterium*, *Veillonella* y *Bacteroides*. Estas sustancias tienen una actividad "endotoxina" similar a las de los bacilos gramnegativos facultativos. Su actividad es algo menos potente pero se ha demostrado su capacidad (en *Bacteroides*) de participar en la producción de abscesos y de causar hipercoagulabilidad. El polisacárido capsular de *Bacteroides* del grupo *fragilis* es otro factor de virulencia importante, ya que se comporta en forma similar a las cápsulas de otras bacterias, es decir, le confiere al germen "la lanza y el escudo" en cuanto favorece su poder invasivo y dificulta la acción defensiva de los leucocitos polimorfonucleares. Aun más, está claramente demostrada su participación en la formación de abscesos.

Diversas enzimas producidas por los microorganismos anaerobios deben considerarse como

factores de virulencia: colagenasas, hialuronidasas, DNAsas, elastasas, heparinasas son las principales. También deben incluirse aquellas enzimas que protegen contra la acción letal del O<sub>2</sub> tales como catalasa y superóxido-dismutasa, en cuanto permiten la sobrevivencia del germen en un ambiente adverso hasta que se presenten las condiciones favorables. Estos factores de virulencia no deben considerarse como “toxinas”.

### EPIDEMIOLOGÍA

Las bacterias anaerobias están diseminadas en la naturaleza. La mayoría de las bacterias anaerobias que causan infecciones en humanos son parte de la flora normal de piel y mucosas, superando en cantidad a las bacterias facultativas en el intestino por un factor de 1000:1, mientras que en piel, boca, vías aéreas superiores y tracto genital inferior femenino la relación anaerobios-facultativos es de 5-10:1. Otros patógenos anaerobios como *Clostridium botulinum* y *Clostridium tetani* se encuentran en suelos y no son considerados parte de la flora humana.

Aunque la transmisión persona-persona de *C. difficile* entre los pacientes hospitalizados representa un gran problema, la mayoría de las infecciones por anaerobios ocurren cuando microorganismos de la flora normal del paciente acceden a un sitio normalmente estéril como resultado de la ruptura de alguna barrera anatómica. Por esto el conocimiento de esta flora normal es importante pues nos permite sospechar qué microorganismos pueden estar involucrados en determinado proceso infeccioso y en consecuencia, establecer una antibioterapia empírica racional, así como seleccionar los medios de cultivo apropiados para el aislamiento e identificación bacterianos.

La tabla 1 muestra la frecuencia de los microorganismos anaerobios más comunes como flora normal humana en diferentes localizaciones.

**Tabla 1.** Incidencia de las bacterias anaerobias como flora normal humana

	Piel	Tracto respiratorio superior	Boca	Intestino	Genitales externos	Uretra	Vagina
<b>Bacilos grampositivos esporulados</b>							
<i>Clostridium</i>	0	0	1	3-4	0	1	1
<b>Bacilos grampositivos no esporulados</b>							
<i>Actinomyces</i>	0	2	2	1	0	0	0
<i>Bifidobacterium</i>	0	0	2	1	0	0	2
<i>Eubacterium</i>	1	1	2	3-4	d	d	1
<i>Lactobacillus*</i>	0	0	2	2	0	1	3-4
<i>Propionibacterium</i>	3-4	2	1	1	d	0	2
<b>Bacilos gramnegativos</b>							
<i>Bacteroides</i>	0	2	3-4	2	2	2	2
<i>Fusobacterium</i>	0	2	3-4	2	2	2	1
<b>Cocos Gram positivos</b>	2	2	3-4	3-4	2	1	2
<b>Cocos Gram negativos</b>	0	2	3-4	2	0	d	2

Tracto respiratorio superior incluye vías nasales, nasofaringe, orofaringe y amígdalas. (\*) Incluye anaerobios, facultativos y microaerófilos, (d=desconocido) (0=no encontrados o raros) (1=hallazgo irregular) (2=habitualmente presentes) (3-4=presentes en gran número).

### RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Teniendo en cuenta que los anaerobios están presentes en gran número en prácticamente toda la superficie cutaneomucosa, es difícil muchas veces evitar la contaminación de la muestras con estos microorganismos. Es por esto que las siguientes muestras son inaceptables para cultivar en anaerobiosis:

- Exudado faríngeo, nasofaríngeo o bucal.
- Expectación.
- Secreciones obtenidas por aspiración oro o nasotraqueal.
- Cepillado o lavado bronquial (salvo el obtenido por catéter de doble luz).
- Contenido gástrico e intestinal (salvo excepciones).
- Materias fecales (salvo para la búsqueda de *C. difficile*)
- Exudado rectal.
- Orina obtenida por sonda o espontáneamente.
- Exudados vaginales y cervicales.
- Exudado uretral.

La expectación no debe cultivarse en anaerobiosis porque el esputo se contamina con la flora anaerobia normal de la faringe y la boca en su pasaje al exterior; igualmente pasa con el esputo obtenido por fibroscopía o los aspirados nasotraqueales ya que el tubo arrastra en su introducción flora normal en su extremo distal.

La orina emitida espontáneamente o con sonda se contamina por la colonización natural de la porción distal de la uretra y el meato, o por la colonización de la sonda. Si existen catéteres suprapúbicos o renales pueden utilizarse para tomar la muestra con resultados aceptables.

Una recolección de muestra adecuada debe evitar siempre la más mínima contaminación con flora normal. Las muestras más adecuadas para el cultivo de anaerobios son las siguientes:

- Bilis.
- Sangre.
- Médula ósea.
- Líquido cefalorraquídeo.
- Otros fluidos de sitios normalmente estériles (por ej: líquido articular).
- Líquido de ascitis.
- Orina obtenida por punción suprapúbica.
- Tejidos obtenidos por biopsia o autopsia.
- Líquido pleural obtenido por toracocentesis.
- Lavado bronquial obtenido con cepillo protegido.
- Aspirado transtraqueal.
- Punción pulmonar transparietal (PPTP).
- Aspiración con aguja de abscesos cerrados.
- Contenido uterino colectado con cepillo protegido.

### TRANSPORTE DE MUESTRAS

Otro factor crucial para el éxito en el aislamiento de anaerobios es el transporte adecuado de la muestra. Se debe proteger a los microorganismos de los efectos nocivos del oxígeno atmosférico durante el tiempo que transcurre entre la extracción y la siembra anaeróbica de la muestra. La primera y más efectiva medida es “correr” ya que en ninguna otra ocasión como esta el envío inmediato al laboratorio es tan fundamental. Las muestras deben ser colocadas en un sistema de transporte que asegure la anaerobiosis. Existen tubos, comercialmente dis-

ponibles en los que se ha sustituido el aire por otro gas, como  $\text{CO}_2$  o  $\text{N}_2$ , denominados tubos gaseados y que contienen un indicador de anaerobiosis. Dichos tubos sirven para el transporte de muestras líquidas que se inyectan a través de un tapón de goma luego de eliminar todo el aire de la jeringa y aguja. Un sistema similar sirve para transportar hisopos. Si la muestra es un tejido o una biopsia, esta puede mantenerse en un tubo o recipiente con suero fisiológico y éste a su vez en una bolsa o sobre de anaerobiosis, que describiremos más adelante. En casos de extracción de material con aguja y jeringa, si la demora no supera los 30 minutos puede enviarse el material en la misma jeringa expulsando el aire residual y obturando la aguja con un tapón de goma.

Las muestras deben conservarse a temperatura ambiente hasta ser procesadas en el laboratorio ya que la refrigeración puede oxigenar la muestra.

### MÉTODOS DE CULTIVO

Luego de sembrar la muestra en un medio de cultivo adecuado, la incubación en anaerobiosis se consigue por medio de alguno de los siguientes sistemas: jarras anaeróbicas, bolsas de anaerobiosis y la cámara de anaerobiosis o “cámara de guantes”. El último método es muy caro, requiere equipamiento complejo, es lento y se usa para estudios de flora normal y en laboratorios altamente especializados. Desde el punto de vista práctico las jarras y los sobres o bolsas son equiparables en rendimiento a los sistemas más sofisticados y son aceptables para el aislamiento de bacterias anaerobias en el laboratorio clínico. Con estos sistemas son posibles los cultivos en medios sólidos para la obtención de aislamientos que permitan la identificación bacteriana.

### Jarras de anaerobiosis

Es el sistema más utilizado para generar una atmósfera anaeróbica. Consiste en una jarra de plástico con una tapa que cierra herméticamente. La atmósfera anaerobia puede lograrse por dos métodos diferentes. El más sencillo utiliza un sobre comercial generador de hidrógeno y  $\text{CO}_2$  que es activado, ya sea mediante la adición de agua o por la humedad de las placas de agar. El  $\text{H}_2$  se combina con el  $\text{O}_2$  del aire para formar agua generando la anaerobiosis. Esta reacción es catalizada por granallas de zinc recubiertas de paladio que se encuentran depositadas en una canastilla fija a la tapa de la jarra. El segundo método consiste en la extracción del aire contenido en la jarra a través de la generación de vacío, sustituyendo el mismo por otro gas libre de  $\text{O}_2$  como el nitrógeno. El contenido final de la jarra consiste en una mezcla de gases conteniendo generalmente 80-90% de nitrógeno, 5-10% de hidrógeno y 5-10% de  $\text{CO}_2$ . Una tirilla de papel impregnada en azul de metileno (azul en presencia de  $\text{O}_2$ , incoloro en su ausencia) introducida en la jarra es el indicador de anaerobiosis.

### Bolsas de anaerobiosis

Consiste en una bolsa plástica transparente, gas impermeable, un indicador de anaerobiosis (azul de metileno o resarzurina) y un sobre generador de anaerobiosis igual al utilizado para las jarras. Una o dos placas de Petri pueden introducirse antes de sellar la bolsa. Este sistema tiene las ventajas de su economía y practicidad, además de poder observar directamente si existe crecimiento en las placas de Petri sin abrir el sistema; también se puede utilizar para los sistemas de identificación tipo API-20A. Estas bolsas sirven además para el transporte de muestras como habíamos visto anteriormente.

## IDENTIFICACIÓN DE LOS ANAEROBIOS

### Examen macroscópico de la muestra

Al recibir la muestra en el laboratorio debe ser examinada en busca de algunas características que sugieren la presencia de anaerobios, como: olor fétido, gránulos de azufre (asociados a la presencia de *Actinomyces* spp., *Propionibacterium* spp., o *Eubacterium nodatum*), fluorescencia bajo luz ultravioleta (que ocurre ante la presencia de cepas pigmentadas de *Prevotella* o *Porphyromonas*).

### Tinción de Gram

Una característica general de los microorganismos anaerobios es su tendencia a tornarse gramnegativos cuando se aplica la coloración de Gram, sea por la poca estabilidad frente a la decoloración lo que los convierte en Gram inestables al examen directo de los materiales, sea porque existe una variación tintorial en los cultivos bacteriológicos. Por esto es que pueden realizarse las siguientes modificaciones a la técnica de la tinción de Gram:

- efectuar la decoloración solamente con alcohol etílico prescindiendo de la acetona
- prolongar el tiempo de contacto con lugol hasta 1 minuto.

### Cultivo

Los medios de cultivo primarios para la siembra de una muestra de anaerobios son varios, pero en general incluyen un medio no selectivo como el agar sangre y algún medio selectivo. Además otra placa de agar sangre, una de agar chocolate y una de agar MacConkey son inoculadas e incubadas en aerobiosis, ya que la mayoría de las infecciones por anaerobios son polimicrobianas e incluyen bacterias aerobias y facultativas. Un medio de cultivo líquido habitualmente caldo tioglicolato se utiliza como medio de enriquecimiento cuando la muestra proviene de un sitio estéril. Existen varios medios líquidos comercialmente disponibles para hemocultivos. Algunos contienen (SPS) *sodium polyanetol sulfonate*, el cual estimula el desarrollo de los anaerobios, aunque al parecer sería inhibidor para *Peptococcus anaerobius*. Se trata de frascos de 100 ml, al vacío, con el agregado de CO<sub>2</sub>, una base nutritiva (digerido trípico de soja o peptonas) y un agente reductor (tiol o tioglicolato). El porcentaje de sangre a inocular es del 5 al 10 % v/v. Los frascos se examinan diariamente buscando turbidez, hemólisis o gas; se consideran negativos definitivamente a los 10 días de incubación previo subcultivo final.

Las placas inoculadas deben ser inmediatamente incubadas en condiciones anaerobias a 37 °C durante 48 horas, al cabo de las cuales si no hay desarrollo deben ser incubadas al menos 5 días antes de ser descartadas.

### Identificación

La morfología colonial así como la presencia de hemólisis, olor, etc. son algunas características a tener en cuenta como primera aproximación a la identificación. Todos los morfotipos coloniales de la placa de agar sangre incubada en anaerobiosis deben ser examinados con una tinción de Gram y subcultivadas para determinar su aerotolerancia. Para ello cada colonia debe ser subcultivada en una nueva placa de agar sangre en anaerobiosis y en una placa de agar chocolate en CO<sub>2</sub>. En la placa de agar sangre se colocan los siguientes discos de antibióticos para una identificación preliminar de los anaerobios y no con fines de probar la susceptibilidad antibiótica: kanamicina, colistina, vancomicina.

La identificación completa de los anaerobios es bastante costosa, frecuentemente requiere varios tests bioquímicos, cromatografía gas-líquido de los productos metabólicos derivados

de la fermentación de la glucosa, y cromatografía de ácidos grasos de cadena larga. Es por esto que en general la identificación completa o confirmatoria queda reservada a laboratorios de referencia. La mayoría de los laboratorios clínicos deben conformarse con una identificación presuntiva que además es suficiente para guiar la terapia antimicrobiana adecuada. Una agrupación preliminar de los anaerobios se obtiene de la combinación de las siguientes características: origen de la muestra, morfología microscópica, reacción al Gram, morfología colonial, prueba de aerotolerancia.

En el diagrama siguiente se esquematizan los pasos a seguir:

Cultivo en placa	
Registrar	Realizar
Morfología de colonias	Gram
Pigmento	Indol Catalasa
Hemólisis	Test NO <sub>3</sub>
Fluorescencia	
Susceptibilidad a: Vancomicina Kanamicina Colistin SPS	
Actividad lipasa Actividad lecitinasa	

## Susceptibilidad a los antibióticos

La antibioticoterapia de las infecciones por anaerobios es habitualmente empírica ya que los cultivos y el aislamiento son lentos y dificultosos. Por otra parte, las pruebas de sensibilidad realizadas en los laboratorios clínicos no dan resultados confiables. De manera pues, que nos debemos guiar por las pruebas realizadas en los laboratorios de referencia internacionales que aportan datos sobre sensibilidad y nos permiten predecir con un nivel razonable de seguridad cuales son los antibióticos de elección para cada germen. Las pruebas de sensibilidad se realizan de forma similar a las de gérmenes aerobios.

## Bacilos grampositivos no esporulados

Este grupo diverso de microorganismos incluye bacterias anaerobias estrictas y aerotolerantes que forman parte de la flora normal de piel y mucosas. Todos comparten la característica de ser poco virulentos o de escaso poder patógeno, produciendo infecciones oportunistas en el caso de *Actinomyces*, *Mobiluncus*, *Propionibacterium*. *Lactobacillus*, *Eubacterium* y *Bifidobacterium* muy rara vez causan enfermedad.

### ACTINOMYCES

Se trata de bacilos grampositivos largos y ramificados, delgados y delicados, bajo ciertas circunstancias, frotis o cultivos pueden fragmentarse simulando bacilos del tipo difteroides. En general son facultativos, aunque crecen mejor en anaerobiosis. *A. meyeri* es el único anaerobio estricto. Son capnófilos. Crecen lentamente y en el hospedero suelen producir infecciones crónicas.

Forman parte de la flora normal de las mucosas del tracto respiratorio superior, tracto



digestivo y aparato genital femenino, pero normalmente no están presentes en la superficie cutánea. La cavidad oral es su hábitat principal. Los microorganismos tienen un bajo potencial de virulencia, por lo tanto producen enfermedad sólo cuando las barreras mucosas normales se alteran por traumatismos, cirugía o infección.

La enfermedad producida por *Actinomyces* se llama actinomicosis y se caracteriza por el desarrollo de lesiones granulomatosas crónicas que se hacen supurativas y forman abscesos conectados mediante fístulas. En los abscesos y los tractos fistulosos se pueden observar colonias macroscópicas que recuerdan a los granos de arena, llamadas gránulos de azufre por su aspecto amarillo o naranja y están formadas por masas de microorganismos unidos entre sí por fosfato cálcico. Las zonas de supuración están rodeadas por un tejido fibroso de granulación lo que da a la superficie que cubre a los tejidos afectados una consistencia dura o de madera.

*Actinomyces israelii* es el patógeno humano más importante.

La actinomicosis es entonces una enfermedad endógena y se clasifica según los órganos que afecta en:

- actinomicosis cervicofacial constituye aproximadamente el 50% de los casos de actinomicosis. Ocurre en personas con mala higiene bucal o que han sido sometidas a un procedimiento dental invasivo o a un traumatismo oral. De esta manera los microorganismos presentes en la boca invaden los tejidos enfermos y producen una enfermedad piógena aguda o, más frecuentemente, un proceso inflamatorio de evolución lenta, relativamente indoloro, con fibrosis y cicatrización, así como con fístulas de drenaje a lo largo del ángulo de la mandíbula y del cuello. Producen también enfermedad periodontal.
- actinomicosis torácica se produce por aspiración del agente desde el tracto respiratorio superior y la boca o por extensión de lesiones cervicofaciales. Al inicio de la enfermedad se produce un absceso pulmonar. Conforme la enfermedad progresa ocurre fistulización al exterior a través de la pared torácica pudiendo interesar costillas y vértebras.
- actinomicosis abdominal ocurre en pacientes sometidos a cirugía digestiva o que han sufrido un traumatismo en el intestino. Puede extenderse por todo el abdomen y afectar a cualquier órgano. Es posible la extensión vertebral y la fistulización al exterior.
- actinomicosis pélvica puede presentarse como una vaginitis o más frecuentemente puede haber una gran destrucción de tejidos con formación de abscesos tubo-ováricos. Se ha descrito infección en mujeres que utilizan dispositivos intrauterinos con sintomatología escasa y sin presencia de gránulos.
- actinomicosis del sistema nervioso central se produce generalmente por diseminación hematógena desde otros tejidos infectados, como los pulmones. La manifestación más frecuente es un absceso cerebral solitario, pero también puede ocasionar meningitis, empiema subdural y abscesos epidurales.

La confirmación en el laboratorio de la actinomicosis es difícil. Si se detectan gránulos de azufre en una fístula o en un tejido, el gránulo se debe aplastar entre dos láminas, teñirse y mirarse al microscopio óptico. Se pueden ver en la periferia de los gránulos bacilos gram-positivos delgados y ramificados.

*Actinomyces* spp. son exigentes y crecen lentamente en condiciones anaerobias, se pueden tardar 2 semanas o más en aislar los microorganismos. Las colonias son blancas y tienen una superficie en forma de cúpula que se puede volver irregular luego de una incubación de una semana o más, lo que recuerda a la parte superior de una muela. Las especies individuales de *Actinomyces* se pueden diferenciar mediante pruebas bioquímicas.

El tratamiento de la actinomicosis implica la asociación del desbridamiento quirúrgico de los tejidos afectados y la administración prolongada de antibióticos. La penicilina es el

antibiótico de elección. El mantenimiento de una buena higiene bucal y el uso de profilaxis antibiótica adecuada cuando se realizan maniobras invasivas en la boca o el tubo digestivo disminuyen el riesgo de estas infecciones.

### PROPIONIBACTERIUM

Son bacilos grampositivos pequeños que se disponen en cadenas cortas o en agregados. Integrantes de la flora normal de piel (en contraposición a *Actinomyces*), conjuntiva, oído externo, orofaringe y aparato genital femenino. Son anaerobios estrictos o aerotolerantes, inmóviles, catalasa positivos y capaces de fermentar hidratos de carbono produciendo como principal residuo ácido propiónico (de ahí su nombre). Las especies que se aíslan con mayor frecuencia son *Propionibacterium acnes*, *P. granulosum* y *P. propionicus*.

*P. acnes* es responsable del acné en adolescentes y adultos jóvenes así como de infecciones oportunistas en pacientes con prótesis (valvulares o articulares) o dispositivos intravasculares. Las propionibacterias se aíslan también a partir de hemocultivos, pero suele deberse a contaminación con bacterias de la piel en el sitio de venopunción.

El papel principal de *P. acnes* en el acné es estimular la respuesta inflamatoria. La producción de péptidos de bajo peso molécula por parte de los bacilos que habitan en los folículos sebáceos atrae a los leucocitos. Luego de fagocitar a los bacilos los fagocitos liberan enzimas hidrolíticas que junto a una variedad de toxinas bacterianas como lipasas, proteasas, neuraminidasa e hialuronidasa estimulan la respuesta inflamatoria lo que lleva a la destrucción del folículo.

Las propionibacterias crecen en la mayoría de los medios de cultivo pero puede tardarse entre 2 y 5 días en evidenciar el crecimiento.

### LACTOBACILLUS

Se trata de bacilos grampositivos largos, de bordes paralelos y extremos rectangulares, facultativos, microaerófilos o anaerobios estrictos. No producen la enzima catalasa ni citocromos. Producen ácido láctico como principal producto de fermentación y tienen requerimientos nutricionales complejos. Llevan a cabo la fermentación homoláctica a través de la vía de Embden-Meyerhof o la fermentación heteroláctica a través de la vía de las pentosas fosfato. Su crecimiento es óptimo en condiciones ácidas (pH entre 4.5 a 6.4).

Se encuentran en la superficie de las plantas así como en la carne, el agua, frutas y otros productos alimenticios. Son indispensables para la industria del alimento donde se utilizan para la fermentación de alimentos y bebidas, como pickles, cerveza, vino, jugos, quesos y yogurt.

En el hombre se encuentran formando parte de la flora normal de la boca, estómago, intestino y tracto genitourinario (constituyen la flora vaginal predominante en mujeres en edad reproductiva). Son los microorganismos más frecuentes en la uretra, por lo tanto su recuperación en los urocultivos procede invariablemente de la contaminación de la muestra. La razón por la cual los lactobacilos rara vez producen infecciones del tracto urinario es su incapacidad para crecer en la orina.

Generalmente no son patógenos. Por el contrario, su efecto beneficioso ha sido demostrado cuando se administran en forma de probióticos (suplemento alimentario que contiene microorganismos vivos con efectos beneficiosos en el huésped al mejorar el balance microbiano intestinal) en la prevención y el tratamiento de algunas enfermedades como la diarrea aguda infantil, diarrea asociada a antibióticos, diarrea del viajero, colitis alérgicas y probablemente otras como la candidiasis vaginal, etc. De todas maneras pueden invadir el torrente circulatorio ocasionando bacteriemias transitorias de origen genitourinario (por ej: después del parto o de un procedimiento ginecológico), endocarditis y sepsis en pacientes inmunodeprimidos.

Son uniformemente resistentes a la vancomicina. Se obtiene actividad antimicrobiana sinérgica mediante la combinación de penicilina más un aminoglucósido.

### **Mobiluncus**

Los miembros de este género bacteriano son bacilos gramvariables o gramnegativos, a pesar de tener una pared celular grampositiva, carente de lipopolisacárido, y sensibles a vancomicina, clindamicina, eritromicina y ampicilina, pero resistentes a colistina. Bacilos curvos con extremos en forma de punta, son anaerobios estrictos. Son exigentes desde el punto de vista nutricional y crecen lentamente incluso en medios enriquecidos.

En humanos se han identificado dos especies, *Mobiluncus mulieris* y *M. curtisii*. Los microorganismos colonizan el tracto genital femenino en un número bajo, pero son abundantes en las mujeres con vaginosis bacteriana. Su aspecto microscópico es un marcador útil para esta enfermedad, pero no está claro el papel preciso de estos microorganismos en la patogénesis de la vaginosis bacteriana.

### **Bifidobacterium y Eubacterium**

Los microorganismos pertenecientes a estos dos géneros se encuentran con frecuencia en la orofaringe, intestino grueso y vagina. Estas bacterias se pueden aislar en las muestras clínicas pero tienen un potencial de virulencia muy bajo y generalmente se aíslan como contaminantes sin significación clínica. La confirmación de su papel etiológico en una infección requiere el aislamiento repetido del microorganismo a partir de múltiples muestras y la ausencia de otros microorganismos patógenos.

## **Cocos grampositivos**

### **PEPTOSTREPTOCOCCUS**

A pesar del nombre del género la morfología de estos gérmenes incluye formas en pares, tétradas, racimos, y cadenas. Un estudio microscópico cuidadoso muestra a estos cocos con tamaño irregular y alguna decoloración parcial, lo que permite diferenciarlos de sus similares aerobios. Forman parte de la flora de la boca, intestino y genitales. Se encuentran involucrados en infecciones pleuropulmonares, abscesos, infecciones ginecológicas, sinusitis. Casi constantemente son sensibles a los betalactámicos.

## **Bacilos grampositivos esporulados**

### **CLOSTRIDIUM**

Los clostridios son bacilos anaerobios formadores de esporas y en general Gram positivos. Casi todas las especies son anaerobias obligadas pero unas pocas especies son aerotolerantes. Las especies patógenas producen toxinas solubles, algunas de las cuales son extremadamente potentes. Los clostridios están ampliamente distribuidos en la naturaleza y se encuentran en los suelos y en el tracto gastrointestinal de los seres humanos y los animales.

Los clostridios patógenos pueden dividirse para su estudio en cuatro grandes grupos de acuerdo al tipo de enfermedad que producen:

1. Los clostridios histotóxicos típicamente causan una variedad de infecciones tisulares, en general luego de heridas abiertas y otras lesiones traumáticas.
2. Los clostridios enterotoxigénicos producen intoxicación alimentaria y formas más severas de enfermedad gastrointestinal.

3. *Clostridium tetani*, agente causal del tétanos, produce la enfermedad por medio de una potente exotoxina que es elaborada durante la proliferación limitada en los tejidos.
4. *Clostridium botulinum* es el agente etiológico del botulismo, enfermedad que resulta de la ingestión de una poderosa exotoxina formada previamente por los microorganismos en alimentos contaminados.

### Clostridios histotóxicos

Pueden ocasionar una severa infección a nivel muscular denominada mionecrosis por clostridios (antes conocida como gangrena gaseosa o miositis por clostridios).

*Clostridium perfringens* es la especie más importante responsable del 80-90% de los casos de mionecrosis. *C. novyi*, *C. septicum*, *C. histolyticum*, *C. sordellii*, *C. fallis* también ocasionan estas infecciones. Todos ellos producen una variedad de toxinas con potencias diferentes; para cada especie las toxinas se designan con letras griegas.

Ninguno de ellos se comporta como un patógeno altamente invasivo, sino que cada uno juega un papel oportunista que requiere un conjunto de condiciones en los tejidos para que se inicie la infección. Determinan un espectro de compromiso clínico en infecciones de heridas que va desde la simple contaminación hasta la mionecrosis. Dada su amplia distribución en la naturaleza, la contaminación de heridas es muy común (39%). Sin embargo una pequeña proporción de heridas contaminadas evoluciona a la verdadera mionecrosis. Por lo tanto el aislamiento de clostridios histotóxicos a partir de heridas o material de drenaje no indica por sí mismo la presencia de mionecrosis: el diagnóstico de dicha afección es clínico.

### *Clostridium perfringens*

Existen cinco tipos diferentes: A, B, C, D y E, que se diferencian por la producción de cuatro toxinas letales principales: alfa, beta, epsilon y theta.

*C. perfringens* tipo A es el principal responsable de enfermedad humana; produce alfa toxina y otras de menor poder (omega, kappa, micrón); habita suelos e integra la flora normal del tracto gastrointestinal de hombre y animales.

Los tipos B, C, D y E existen en el tracto gastrointestinal de animales y sólo de forma ocasional en el hombre. Producen una variedad de enfermedades en animales domésticos; no habitan de forma permanente los suelos como lo hace el tipo A.

### BIOLOGÍA DEL MICROORGANISMO

Es un bacilo netamente grampositivo, corto y grueso, de bordes redondeados, con formas hasta cocoides. En los frotis directos de muestras clínicas no se observan esporos y es característica la ausencia de células eucariotas debido a la intensa citólisis tóxica; pueden observarse cápsulas. En los frotis realizados a partir de cultivos pueden observarse esporos medianos o subterminales que no deforman el soma vegetativo.

Es anaerobio aerotolerante, algunas cepas producen la enzima superóxido dismutasa. Desarrolla a un pH variable (5.5 a 8) y en un rango de temperatura que va de 20 °C a 50 °C. Es el único inmóvil de los clostridios patógenos. Crece rápido en agar sangre, pudiendo observarse colonias a las 24-48 hs de incubación.

### ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

*C. perfringens* produce por lo menos 12 exotoxinas diferentes, de naturaleza proteica y antigénicas.

De los cuatro antígenos letales principales, alfa es la más importante y es producida por

los cinco tipos de *C. perfringens*. Los antígenos menores son enzimas y no son letales: antígeno *K* es una colagenasa, antígeno *V* es una desoxirribonucleasa, antígeno *u* tiene actividad hialuronidasa.

La serotipificación de acuerdo a antígenos somáticos ha tenido aplicación en estudios epidemiológicos de brotes de intoxicación alimentaria, donde existe una correlación entre los serotipos de *C. perfringens* de tipo A aislado en heces de pacientes y los serotipos recuperados de alimentos contaminados.

#### FACTORES DE VIRULENCIA

La toxina alfa posee actividad letal, dermonecrótica y hemolítica; es una lecitinasa C o fosfolipasa C (degrada la lecitina en fosforilcolina y un diglicérido), también hidroliza la esfingomielina; es activada por  $\text{Ca}^{++}$  y  $\text{Mg}^{++}$ . Es un antígeno excelente, tanto que la protección o el tratamiento *in vivo* dependen totalmente del título antitoxina alfa.

*In vivo* actúa sobre complejos lipoprotéicos que contienen lecitina en la membrana celular y probablemente sobre la membrana mitocondrial; produce además alteración de las membranas de eritrocitos, plaquetas, leucocitos y células endoteliales ocasionando lisis de estas células; aumenta la permeabilidad vascular con hemólisis masiva y hemorragia, así como destrucción tisular y edema observados durante la enfermedad. Recientemente se ha descrito su comportamiento como superantígeno (es decir que es capaz de estimular la proliferación policlonal de linfocitos T).

La toxina beta tiene actividad necrotizante (enteritis necrotizante) e induce hipertensión por liberación de catecolaminas.

La toxina epsilon aumenta la permeabilidad vascular de la pared gastrointestinal.

La toxina theta posee actividad necrotizante e induce un aumento de la permeabilidad vascular.

La enterotoxina producida por cepas de *C. perfringens* principalmente tipo A, pero también de los tipos C y D, es una proteína termolábil producida en el colon y liberada durante la esporulación. Posee estructura y función similar a las toxinas LT y CT de *E. coli* y *V. cholerae* respectivamente. También tiene cierta actividad citotóxica. Produce enteritis, la dosis infectante es elevada.

Los antígenos omega, kappa y mu tienen un papel auxiliar en la diseminación local de la infección a través de los tejidos y en la provisión de nutrientes para la proliferación de los microorganismos; en bajas concentraciones la toxina omega es tóxica para los leucocitos humanos y puede ser responsable de la ausencia inusual de células polimorfonucleares en el tejido muscular infectado.

#### EPIDEMIOLOGÍA

*C. perfringens* es un microorganismo ubicuo: el tipo A (principal responsable de enfermedad en humanos) se encuentra en el tracto gastrointestinal de hombre y animales, y son numerosos en suelos, tanto las formas vegetativas como las esporuladas; también están en aguas contaminadas con heces.

La infección por estos microorganismos puede tener un origen endógeno o exógeno. En lesiones traumáticas la fuente de clostridios en general es la tierra presente en las heridas (la incidencia de contaminación e infección de heridas depende de la concentración de *C. perfringens* en los suelos, lo que varía según la localización geográfica).

En las infecciones endógenas la fuente de clostridios es la flora fecal presente en la piel

o las vestimentas introducidas en las heridas, o clostridios que escapan del intestino cuando este es perforado, ya sea por enfermedad, lesiones traumáticas o intervenciones quirúrgicas.

#### **PATOGENIA**

Los clostridios son incapaces de iniciar una infección en tejidos sanos (Eh normal). Factores primordiales que predisponen a la mionecrosis son la isquemia y necrosis muscular, que proporcionan una tensión de  $O_2$  y un potencial de oxido-reducción disminuidos, condiciones necesarias para la proliferación de estos microorganismos. Esto explica que aún con alta incidencia de contaminación de heridas, la incidencia de mionecrosis continúe siendo baja. En áreas con menor tensión de  $O_2$  en el músculo, se acumula ácido láctico y el pH desciende. La combinación de la disminución del Eh y la caída del pH, puede activar enzimas proteolíticas endógenas y dar como resultado autólisis tisular. Esta liberación de nutrientes y la disminución del potencial de óxido-reducción proporcionan condiciones adecuadas para el desarrollo de las microorganismos anaerobios.

La proliferación de los microorganismos se acompaña de producción de toxinas solubles. En la mionecrosis estas toxinas difunden desde el sitio inicial, proliferan y atacan músculo y tejidos circundantes sanos. Estos tejidos son destruidos por las toxinas permitiendo la diseminación de la infección hacia nuevas áreas necróticas. El líquido de edema (producido por acción de la toxina y enzimas de clostridios sobre los tejidos) y el gas del metabolismo bacteriano, aumentan la presión del compartimiento muscular agravando la isquemia, disminuyendo aún más el potencial de óxido-reducción y el pH, proporcionando nuevas áreas adecuadas para la proliferación de clostridios.

#### **ESPECTRO DE MANIFESTACIONES CLÍNICAS**

- Contaminación simple de heridas.
- Celulitis, fascitis y otras infecciones de partes blandas.
- Mionecrosis por clostridios.
- Infecciones uterinas.
- Septicemia por clostridios.
- Intoxicación alimentaria.
- Enteritis necrotizante.

#### **AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN**

Tinción de Gram: el examen directo muestra bacilos Gram positivos rectos sin esporas ni leucocitos

Cultivo: en agar sangre incubado en anaerobiosis a 37 °C durante 24-48 h, colonias planas extendidas, 2-4 mm diámetro

- Patrón característico cuando crece en agar sangre: hemólisis doble, compuesta por una estrecha zona de hemólisis completa producida por la toxina alfa y una zona más amplia de hemólisis incompleta producida por la toxina omega.
- B-hemólisis sinérgica al sembrarlo junto a *S. agalactiae*: prueba CAMP inversa
- Precipitación (opalescencia) en medios que contienen lecitina, causada por la toxina alfa e inhibida de forma específica por la antitoxina.
- Fermentación "tormentosa" en medios con leche: la fermentación de la lactosa produce gran cantidad de ácido, lo que provoca la coagulación de las proteínas (caseína); luego el coágulo es alterado y roto por el gran volumen de gas formado a partir de la fermentación

de la lactosa (esta reacción también es producida por otras especies como *C. septicum* y otras)

- Producción de gas a partir de glucosa, fermentan lactosa, producción de ácido a partir de glucosa y lactosa, etc.

#### **SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA**

Todos los microorganismos del género *Clostridium* son uniformemente sensibles a penicilina.

### **Clostridios enterotoxigénicos**

#### **Intoxicación alimentaria**

*C. perfringens* es la tercera causa de toxiinfección alimentaria bacteriana después de *Salmonella* spp. y *Staphylococcus aureus*. Es causada por *C. perfringens*, usualmente cepas tipo A, productoras de enterotoxina. Dicha toxina es una proteína que se comporta como un superantígeno promoviendo la liberación de mediadores de la inflamación en forma masiva.

#### **EPIDEMIOLOGÍA**

La enfermedad se produce cuando el individuo ingiere alimento contaminado con un elevado número de microorganismos productores de enterotoxina (100 millones). Los alimentos que pueden estar contaminados son carnes vacuna, suina, pollo, salsas cocinadas y no refrigeradas. Cuando los alimentos llegan al intestino delgado se produce la esporulación y la liberación de enterotoxinas. No son comunes los brotes familiares pero sí los producidos a través de alimentos preparados comercialmente destinados a restaurantes o instituciones.

En Uruguay según datos recogidos por el Sistema de Información Regional para la Vigilancia Epidemiológica de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) se han declarado 3 brotes en el período 1993-2001, con 37 individuos afectados, no registrándose muertes. Los alimentos implicados fueron carnes rojas y carnes de aves. Dos ocurrieron en comedores y uno en una vivienda.

#### **PATOGENIA**

Todos los síntomas son atribuibles a la enterotoxina, que en general se sintetiza durante la esporulación de los microorganismos en el intestino delgado. La enterotoxina se une a un receptor de membrana del ribete en cepillo e induce una alteración de la permeabilidad calcio dependiente resultando en una pérdida de iones y metabolitos. Esta pérdida electrolítica altera la función metabólica intracelular provocando daño morfológico y eventual lisis.

#### **CLÍNICA**

Entre 7 y 15 horas luego de la ingestión de alimento contaminado los pacientes experimentan dolor abdominal agudo y diarrea; estos síntomas duran 12-18 horas y la recuperación suele ser completa, salvo raros casos de muerte en pacientes de edad avanzada y personas debilitadas.

#### **DIAGNÓSTICO**

Para confirmar el diagnóstico debe recuperarse el agente del alimento y del paciente. El diagnóstico se establece mediante el recuento de más de 100.000 UFC (unidades formadoras de colonias) por gramo de alimento o 1.000.000 UFC por gramo de materia fecal en el primer día de enfermedad. También puede buscarse la presencia de enterotoxina en las heces utilizando

ELISA o hemaglutinación pasiva reversa; se han desarrollado además técnicas moleculares para la detección de estos agentes

#### TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

En general no requiere tratamiento antimicrobiano, sólo medidas de sostén. Como acción preventiva debe ser mantenida una refrigeración adecuada de los alimentos cocidos de no ser consumidos de inmediato.

#### Enteritis necrotizante

Es causada por *C. perfringens* tipo C y es más severa que la intoxicación alimentaria causada por el tipo A. Tiene un período de incubación de menos de 24h luego del cual aparecen dolor abdominal intenso y diarrea; en algunos pacientes ocurre pérdida de la mucosa intestinal con enterorragia. Puede ser letal con shock u oclusión intestinal y peritonitis. La toxina beta producida por *C. perfringens* tipo C es responsable de los síntomas; la administración de antitoxina reduce la mortalidad.

#### Enterocolitis pseudomembranosa

*Clostridium difficile* es el microorganismo responsable de esta entidad. Se trata de una gastroenteritis asociada a antibioticoterapia de severidad variable desde diarrea autolimitada a colitis pseudomembranosa grave, potencialmente mortal.

*C. difficile* es un microorganismo anaerobio obligado, sacarolítico y débilmente proteolítico, a través de la fermentación ácida produce un conjunto de productos detectables por medio de cromatografía gas-líquida.

Es parte de la flora normal del intestino del hombre y los animales.

#### FACTORES DE VIRULENCIA

*C. difficile* produce dos toxinas proteicas principales, antigénicamente diferentes, ambas implicadas en la patogenia: la toxina A, una enterotoxina potente y la toxina B citotóxica. La toxina A o enterotoxina es quimiotáctica para neutrófilos, produce infiltración de leucocitos polimorfonucleares en la lámina propia del íleon e induce la liberación de citoquinas por parte de macrófagos y polimorfonucleares, potenciando la respuesta inflamatoria a nivel local, con la resultante hipersecreción de líquidos y necrosis hemorrágica. La citotoxina o toxina B depolimeriza la actina ocasionando destrucción del citoesqueleto celular.

Otros factores de virulencia: factor de adherencia o adhesina (*in vitro* se une específicamente a células del colon humano), una hialuronidasa que hidroliza el ácido hialurónico del tejido conjuntivo, favoreciendo la diseminación; la formación de endosporas permite la supervivencia de estos moos en el medio ambiente hospitalario durante meses.

#### PATOGENIA

El tratamiento antibiótico extenso altera la flora entérica normal, permitiendo la proliferación de *C. difficile* relativamente resistentes o la colonización exógena (las cepas infecciosas de *C. difficile* pueden ser endógenas o exógenas); los antibióticos más a menudo vinculados a colitis pseudomembranosa son ampicilina, clindamicina y cefalosporinas.



**TRATAMIENTO**

La interrupción del antibiótico usado suele alcanzar para el caso de enfermedad leve. Los cuadros graves pueden tratarse con metronidazol o vancomicina vía oral. Puede haber recidivas por esporas resistentes al tratamiento antibiótico.

**PREVENCIÓN**

Es importante conocer el potencial para generar enfermedad gastrointestinal de la administración de antibióticos. Ante la presencia de diarrea sin otra causa evidente en pacientes que están recibiendo antibióticos es aconsejable suspender el tratamiento antibiótico o sustituirlo por otro que se asocie menos con diarrea y colitis.

**Clostridium tetani**

Agente causal del tétanos, una enfermedad rara hoy en día en países desarrollados. Sin embargo, en países pobres, el tétanos neonatal tiene un impacto significativo sobre la mortalidad global. En el adulto la enfermedad ocurre clásicamente luego de una herida punzante y se caracteriza por espasmos musculares, el más típico de los cuales es el del maxilar inferior, de ahí el término de *trismus*.

La naturaleza anaerobia de *C. tetani* fue responsable en parte de la demora en su descubrimiento y aislamiento, que fue logrado en 1889 por Kitasato. Así se llegó al descubrimiento de la toxina tetánica y a la detección poco tiempo después de la antitoxina específica.

**Biología del microorganismo**

*C. tetani* es un bacilo largo y delgado en comparación con otros clostridios patógenos. Son grampositivos, aunque como todas las bacterias anaerobias tienden a tornarse Gram variables, sobre todo en los cultivos más viejos. Producen esporas terminales de mayor diámetro que la célula vegetativa, dando la característica imagen de palillo de tambor. Tienen flagelos peritricos que le confieren activa motilidad.

Es anaerobio estricto, difícil de cultivar por su extremada sensibilidad al oxígeno. Posee requerimientos nutricionales complejos (entre ellos ciertos aminoácidos y vitaminas); es capaz de crecer en agar sangre y en caldo con carne cocida. No fermenta ningún hidrato de carbono, tiene escasa actividad metabólica.

**Estructura antigénica**

Poseen antígenos flagelares o antígenos H (10 serotipos) y antígeno somático o antígeno O (un solo serogrupo). Todas las cepas de *C. tetani* producen un solo tipo antigénico de toxina y su efecto es neutralizado por una sola antitoxina lo que tiene una enorme importancia práctica en cuanto a la profilaxis de esta enfermedad.

**Factores de virulencia**

Toxina tetánica: todos los síntomas del tétanos son atribuibles a una neurotoxina sumamente tóxica, la tetanospasmina, toxina intracelular liberada por autólisis celular. El gen estructural de la toxina se localiza en un plásmido. Es una proteína termolábil (inactivada por calentamiento a 60°C durante 20 min). Se trata de una toxina tipo A-B. Por analogía con estas toxinas, se cree que la toxina tetánica es captada por endocitosis mediada por receptores y que el bajo pH presente en el compartimento endosómico hace que la toxina se inserte en la bicapa lipídica y atraviese la membrana endosómica para llegar al citoplasma. La toxicidad de la toxina tetánica intacta se asocia con la cadena liviana A. El fragmento B purificado de la cadena

pesada forma canales en las membranas lipídicas y posee el sitio de unión a los receptores celulares (sitio fijador de gangliósidos).

La toxina tetánica es una de las sustancias más tóxicas que se conocen (sólo la toxina botulínica y la toxina Shiga tienen una toxicidad comparable). El toxoide producido a partir del tratamiento de la toxina con formaldehído es útil para la inmunización contra la enfermedad. El toxoide no es tóxico pero conserva los determinantes antigénicos de la toxina tetánica que dan origen a los anticuerpos antitoxina. La molécula de la toxina tetánica contiene 20 determinantes antigénicos diferentes como mínimo, y los anticuerpos contra por lo menos 9 de ellos son capaces de neutralizar la toxicidad de la toxina.

La tetanolisina es una hemolisina oxígeno lábil relacionada serológicamente con hemolisinas de otros clostridios y con la estreptolisina O de *S. pyogenes*.

Las esporas de *C. tetani* son capaces de persistir en el medio ambiente (suelo, tracto gastrointestinal de humanos y animales) durante meses o años.

### Epidemiología

Si bien la incidencia del tétanos ha disminuido en las regiones del mundo donde se alcanza un alto porcentaje de inmunización de la población, continúa siendo una enfermedad común y no controlada en algunos países en desarrollo.

### Patogenia

Las esporas de *C. tetani* son ubicuas: se recuperan en 20-64% de muestras de suelos recolectadas para cultivos así como del tracto gastrointestinal de humanos y otros animales. Si se efectúan cuidadosos cultivos de material de heridas traumáticas la presencia de *C. tetani* también puede demostrarse con mucha frecuencia. Sin embargo es bastante raro que se desarrolle tétanos a partir de estas heridas. El aspecto más significativo de la patogenia del tétanos es el contexto de la herida donde el potencial de oxido-reducción debe tener el equilibrio apropiado para permitir la multiplicación del microorganismo y la toxigénesis. Clásicamente las heridas halladas en la práctica son las heridas punzantes producidas por clavos, astillas o espinas, pero también en otros contextos como las fracturas expuestas, el uso drogas intravenosas, las úlceras de decúbito y las varicosas, las otitis externas y las extracciones dentales, se dan las condiciones adecuadas. La forma más temida de tétanos, el tétanos neonatal es una causa importante de morbimortalidad en países en desarrollo y es producida por el corte del cordón umbilical con instrumentos no estériles o por el cuidado inapropiado del muñón umbilical.

Un factor contribuyente importante es la presencia de bacterias aerobias que pueden proliferar hasta el punto de eliminar el O<sub>2</sub> y luego continuar proliferando de forma facultativa en anaerobiosis. Esta proliferación puede reducir el Eh hasta el punto en el cual las esporas tetánicas pueden germinar. Después de la germinación de las esporas se elabora la toxina, que ingresa en el sistema nervioso central. La infección por *C. tetani* permanece localizada con reacciones mínimas a menos que se encuentren otros microorganismos.

La forma de acción de la toxina involucra la unión a gangliósidos GT1 en las membranas de las terminaciones nerviosas periféricas a través la subunidad B, seguida de la internalización de la subunidad A y su desplazamiento hacia el sistema nervioso central por transporte axonal retrógrado. Cuando llega a la región del núcleo es transportada hacia las interneuronas inhibitorias, donde inhibe la liberación de neurotransmisores inhibitorios (GABA, glicina) conduciendo a una actividad sináptica excitadora descontrolada dando lugar a una parálisis espástica. Esta inhibición de la liberación de sustancias inhibitorias permite que prevalezcan los músculos más poderosos: espasmos musculares de los maseteros con trismus, flexión de

las extremidades superiores y extensión de las inferiores con arqueamiento de la espalda (opistótonos).

#### **Manifestaciones clínicas**

Tétanos generalizado: afectación maseteros o trismo, dando lugar a la risa sardónica, salivación, sudoración, irritabilidad y espasmos persistentes de los músculos de la espalda (opistótonos). Además puede haber afectación del sistema nervioso autónomo dando lugar a arritmias cardíacas, fluctuaciones de la presión arterial, sudoración intensa y deshidratación.

Tétanos localizado: afecta la musculatura sólo de la zona de infección primaria.

#### **Aislamiento e identificación**

Para su aislamiento debe sembrarse de inmediato en medios sólidos prerreducidos y medios de cultivo líquidos para anaerobios. Las colonias son translúcidas con borde que avanza filamentosamente y delicado, beta hemolíticas. La prueba final para la identificación de *C. tetani* es la demostración de la producción de toxina tetánica *in vivo* cuando se inyecta en ratones, y la neutralización de su toxicidad en ratones previamente inoculados con antitoxina.

#### **Tratamiento**

Se basa en el debridamiento de la herida y la administración de penicilina (en pacientes alérgicos se puede administrar tetraciclinas o metronidazol), la inmunización pasiva con inmunoglobulina antitetánica humana (que neutraliza la tetanoespasmina libre) y la inmunización activa con toxoide tetánico.

Para los espasmos musculares se utilizan drogas como curare o, en tetanoespasmos leves, barbitúricos y diazepam, además del soporte de las funciones vitales.

#### **Prevención**

Se realiza a través de la vacunación con toxoide tetánico (toxina tratada con formalina); se administran 3 dosis al principio y luego dosis de refuerzo cada 10 años.

La inmunización de embarazadas en el tercer trimestre del embarazo asegura la inmunización pasiva del neonato (mediante el pasaje de anticuerpos maternos a través de la placenta), disminuyendo el riesgo de tétanos neonatal. La enfermedad natural no confiere inmunidad contra infecciones posteriores, por lo tanto los pacientes que se recuperan de la enfermedad deben ser inmunizados activamente para prevenir la reinfección exógena o la recurrencia a partir de esporas retenidas dentro del organismo.

#### ***Clostridium botulinum***

*C. botulinum* produce la exotoxina más potente que se conoce, que es una neurotoxina causante del botulismo, una severa enfermedad neuromuscular caracterizada por comienzo súbito y evolución rápida que culmina en un parálisis marcada y un paro respiratorio. La enfermedad es rara en el ser humano, muy común en los animales. A diferencia de la toxina tetánica, hay ocho toxinas botulínicas serológicamente diferentes, denominadas A, B, C1, C2, D, E, F, G.

La forma más común de botulismo es el transmitido por los alimentos, una intoxicación causada por la ingestión de la toxina botulínica preformada en los alimentos contaminados. El empleo del autoclave con temperaturas lo bastante elevadas como para destruir las esporas en la industria del enlatado ha reducido la importancia relativa de los alimentos comercialmente enlatados como fuente de la enfermedad, excepto cuando se producen errores en el proce-

dimiento. Dado que la toxina es destruida por el calor, la cocción de rutina de los alimentos enlatados en el hogar limita la frecuencia de éste tipo de intoxicación.

Además del botulismo transmitido por los alimentos la enfermedad también ocurre cuando la toxina es producida por miembros de la especie *C. botulinum* que contaminan heridas traumáticas (botulismo de las heridas) y cuando se elabora la toxina en el tracto gastrointestinal de los lactantes (botulismo infantil o de los lactantes).

### Biología del microorganismo

Son bacilos grampositivos largos, rectos a levemente curvos, con extremos redondeados. Forman esporas ovales y subterminales que distienden los bacilos. Poseen flagelos peritricos que le confieren movilidad. Son anaerobios estrictos, con requerimientos nutricionales complejos.

Existen siete tipos de toxina botulínica (A a G). Es posible dividir a los microorganismos en cuatro tipos (I a IV) según la toxina que producen y su actividad proteolítica. La enfermedad humana está vinculada a los tipos I y II y a la toxina A principalmente.

La resistencia al calor de la spora es mayor que la de cualquier otro microorganismo anaerobio (sobreviven varias horas a 100 °C y hasta 10min a 110 °C). Las esporas son también resistentes a las radiaciones y pueden sobrevivir a -190 °C.

### Estructura antigénica

*C. botulinum* ha sido dividido en ocho tipos serológicamente diferentes sobre la base del tipo de toxina producida.

### Factores de virulencia

La toxina botulínica es una proteína tipo A-B con una subunidad A o cadena ligera A que posee actividad neurotóxica y una o más subunidades B o cadenas pesadas B no tóxicas, responsables de la unión al receptor celular y posterior internalización de A; además protege a la subunidad A de la inactivación por el pH gástrico.

Se clasifica como una exotoxina debido a su potencia y antigenicidad elevadas, sin embargo se diferencia de una exotoxina clásica por cuanto no es liberada durante la vida del microorganismo sino que aparece en el medio solo después de la muerte y la autólisis de éste. La toxina es sintetizada como un polipéptido de cadena única; el clivaje o la formación de muescas en la molécula por medio de proteasas bacterianas en el curso de su liberación de la célula dan como resultado una molécula compuesta por una cadena pesada y una cadena liviana unida por enlaces no covalente y un puente de disulfuro. La producción de la toxina botulínica esta dirigida por bacteriófagos específicos.

### Patogenia

Los casos de botulismo se clasifican en cuatro categorías:

1. El botulismo transmitido por los alimentos es un intoxicación alimentara letal que es resultado de la ingestión de la neurotoxina en alimentos procesados de manera incompleta y contaminados por los microorganismos.
2. El botulismo infantil relacionado con la ingestión por los lactantes de esporas de *C. botulinum*, la multiplicación de los microorganismos en el tracto gastrointestinal y la posterior absorción de la toxina.
3. El botulismo de las heridas, el menos común, enfermedad neurológica asociada con las heridas, las cuales muestran pocas evidencias clínicas de infección activa.

4. El botulismo no clasificado se produce en las personas de más de un año de vida que tiene síntomas de botulismo clínico, sin un vehículo de transmisión identificable.

Las manifestaciones clínicas del botulismo son atribuibles a la toxina de *C. botulinum* presente en los alimentos ingeridos en el tracto gastrointestinal de los lactantes o en las heridas. Es una de las toxinas más potentes que se conocen: 1 µg es suficiente para matar a toda la humanidad.

El botulismo humano en general es resultado de la ingestión de toxina botulínica preformada en los alimentos contaminados. Luego de la ingestión, la toxina es absorbida en el estómago y el intestino delgado, también en el colon. Después de un periodo de incubación que se relaciona de forma inversa con la dosis, la intoxicación conduce a una alteración funcional del sistema nervioso periférico que resulta de la inhibición de la liberación de acetilcolina desde las terminaciones nerviosas colinérgicas en la unión neuromuscular producida por la toxina botulínica. La toxina actúa en tres pasos: 1) unión a un receptor en la superficie en la membrana plasmática, 2) translocación o internalización de la toxina y 3) suceso intracelular cuyo resultado final es el bloqueo de la liberación de acetilcolina inducida por el estímulo nervioso. Además la toxina botulínica afecta la transmisión colinérgica en el sistema autónomo, tanto en los ganglios simpáticos como en las placas terminales motoras parasimpáticas ubicadas de forma periférica.

En el botulismo de las heridas, *C. botulinum* contamina una lesión traumática. Es probable que la rareza de ésta forma de botulismo se deba a la incapacidad de las esporas para germinar con rapidez en los tejidos.

El papel de la infección del tracto gastrointestinal como fuente de botulismo es menos claro. Los lactantes son especialmente susceptibles a la colonización del tracto intestinal por *C. botulinum* y a la producción de la toxina *in vivo*. La resistencia relativa del adulto a la colonización intestinal se adjudica a los cambios evolutivos de la dieta y a la flora bacteriana del intestino. Sin embargo en la actualidad se están observando casos de botulismo infantil en los adultos en especial en aquellos con anomalías del tracto gastrointestinal como consecuencia de una enfermedad inflamatoria intestinal o de un procedimiento quirúrgico. Las alteraciones de la flora intestinal normal como resultado de aclorhidria o de la administración de antibióticos de amplio espectro, son factores de riesgo adicionales para el desarrollo por infección de *C. botulinum* y la producción de la toxina *in vivo*.

### **Epidemiología**

Se encuentran esporas de *C. botulinum* en suelos y agua de todo el mundo. Existen tres formas de botulismo: botulismo clásico o transmitido por alimentos, botulismo infantil y de las heridas.

La toxiinfección alimentaria se manifiesta en brotes relacionados con alimentos comercialmente preparados como enlatados mal conservados, pero más frecuentemente por vegetales, frutas y pescados en preparaciones caseras de tipo mermeladas, pimientos, condimentos para carnes, etc. En Uruguay en el período 1993-2001 se ha declarado un brote de botulismo con un total de 4 individuos afectados, con 1 fallecimiento.

El botulismo del lactante afecta a niños dentro del primer año de vida y es causado por la ingestión de esporas de *C. botulinum* que germinan en el intestino delgado con producción de la toxina *in vivo*. El alimento involucrado fundamentalmente es la miel.

### Manifestaciones clínicas

Después de 12 a 36 horas de la ingestión del alimento contaminado (para el caso del botulismo transmitido por alimentos) el paciente presenta náuseas, sequedad de boca, y diarrea. La enfermedad progresa a debilidad y parálisis flácida descendente y bilateral de los músculos periféricos, llegando luego a la parálisis respiratoria. Si el paciente no muere la recuperación es lenta, pudiendo llevar varios años el restablecimiento de las terminaciones nerviosas afectadas.

La tasa de mortalidad depende del tipo de toxina, la distribución de la toxina en el alimento y del diagnóstico y tratamiento precoz con antitoxina (32% para el tipo A, 17% para el B y 40% para el E).

### Diagnóstico

El diagnóstico de laboratorio se realiza preferentemente en laboratorio de referencia por aislamiento y pruebas bioquímicas convencionales. La enfermedad es confirmada por la presencia de toxina en suero, heces o contenido gástrico del paciente y la presencia de toxinas en el alimento confirma su participación como origen del brote.

### Tratamiento.

El paciente requiere asistencia respiratoria, eliminación del germen del tracto gastrointestinal por lavado gástrico, tratamiento con penicilina y antitoxina botulínica trivalente (antitoxina A, B y E para neutralizar la toxina en sangre). Este tratamiento logra una considerable disminución de la mortalidad.

### Prevención

La profilaxis consiste en evitar la germinación de esporas en los alimentos manteniéndolos a pH ácido o a 4 °C o menos. El calentamiento de los alimentos a 80 °C durante 20 minutos puede destruir la toxina preformada. En el caso del botulismo del lactante la prevención está orientada al no consumo de miel antes del primer año de vida.

## Bacilos gramnegativos

### GÉNERO BACTEROIDES

Los bacteroides son bacilos gramnegativos anaerobios obligados que están presentes en gran cantidad en el intestino grueso del ser humano y otros vertebrados. Llegan a  $10^{11}$  o más por gramo de materia fecal y son los más predominantes, junto con los estreptococos anaerobios (*E. coli* está presente en una proporción  $10^8$ ). El género incluye muchas especies de las cuales *B. fragilis* y *B. thetaiotamicron* son los patógenos más prominentes (otras especies: *B. vulgatus*, *B. ovatus*, *B. distasonis*, *B. ureolyticus* y *B. gracilis*). Entre los bacteroides intestinales *B. fragilis* es un componente menor, que en general se halla en concentraciones de  $10^8$  o  $10^9$  por gramo de materia fecal, sin embargo es por lejos el más aislado con más frecuencia de las infecciones. Esto puede explicarse por algunos factores de virulencia adicionales que posee esta especie.

Los bacteroides se asocian a infecciones anaerobias subdiafragmáticas y genitales (por su vecindad con la porción final del aparato digestivo y región perineal) y sepsis a punto de partida de estas infecciones.

Todos los miembros del género son resistentes a penicilinas (por producción de betalactamasas) y cefalosporinas, con alguna excepción.

## **B. fragilis**

### **BIOLOGÍA DEL MICROORGANISMO**

Cocobacilos pequeños gramnegativos, pleomórficos con vacuolas evidentes. Las colonias son pequeñas, bajas, convexas, de color blanco a gris, semiopacas y brillantes, y algunas pueden ser hemolíticas. *B. fragilis* aislado de muestras clínicas posee una cápsula polisacárida que puede perderse o disminuir con los cultivos sucesivos en el laboratorio.

*B. fragilis* es un microorganismo anaerobio moderado que prolifera de forma máxima con una presión de oxígeno de menos del 3% pero que es capaz de sobrevivir a exposiciones prolongadas al O<sub>2</sub>. El microorganismo produce superóxido dismutasa y catalasa (en presencia de hemina). Proliferan más rápidamente que la mayor parte de las bacterias anaerobias no formadoras de esporas, y la proliferación es estimulada por bilis.

### **ESTRUCTURA ANTIGÉNICA**

Dos antígenos, el proteico termolábil y el lipopolisacárido termoestable han proporcionado la base para la clasificación serológica de los *Bacteroides*. Se ha demostrado un antígeno polisacárido capsular específico de especie en las cepas de *B. fragilis*.

### **FACTORES DE VIRULENCIA**

La cápsula polisacárida de *B. fragilis* confiere mayor virulencia a esta especie por iguales mecanismos que en otras bacterias: interferencia en la quimiotaxis, en la fagocitosis y la destrucción opsonofagocítica por los neutrófilos y posiblemente también en la depuración de los microorganismos por la mayor adherencia de los moco encapsulados al mesotelio peritoneal. Otras especies del género *Bacteroides* también presentan cápsula.

El lipopolisacárido de la membrana externa de los bacteroides tiene una estructura química alterada en comparación con las endotoxinas clásicas de las bacterias Gram negativas aerobias y facultativas, y tiene menos actividad biológica. Aún así el lipopolisacárido del *B. fragilis* parece promover la formación de abscesos en animales de experimentación (aunque la cápsula es más activa en este aspecto que el lipopolisacárido). Además, se ha demostrado el aumento de la coagulación (disminución del tiempo de coagulación) en los ratones inyectados con lipopolisacárido.

Estos microorganismos producen muchas enzimas periplasmáticas, como las lipasas, las proteasas y una neuraminidasa, aunque su papel en la patogenia todavía no ha sido bien documentado. Las enzimas protectoras contra el oxígeno como la superóxido dismutasa, la peroxidasa y la catalasa pueden considerarse factores de virulencia porque aumentan la supervivencia de los anaerobios en los tejidos ante el establecimiento de una tensión de oxígeno y un potencial de oxidorreducción bajos.

El succinato, un ácido graso de cadena corta elaborado como producto final metabólico, es producido por todas las especies del género *Bacteroides*. El ácido succínico en las concentraciones que corresponden a las medidas en los abscesos reduce de manera significativa la destrucción fagocítica de *E. coli* por los leucocitos polimorfonucleares humanos y disminuye su migración quimiotáctica.

Se han descrito cepas de *B. fragilis* que producen una enterotoxina. Estas cepas enterotoxigénicas se asocian de manera significativa con enfermedades diarreicas en el ser humano y en el ganado que no presentan otros patógenos entéricos conocidos.

**PATOGENIA**

La pared del colon puede romperse como resultado de un traumatismo penetrante o no penetrante, la ruptura del intestino o cirugía abdominal. Cualquiera que sea el mecanismo, el número de moos que contaminan la cavidad peritoneal es enorme. Los fagocitos son movilizados rápidamente en gran cantidad hacia el sitio infectado y pueden eliminar un gran número de bacterias. Los microorganismos que ingresan en la cavidad peritoneal se hallan primero en una fase líquida que podría, en principio, llevar a su diseminación en toda la cavidad. Sin embargo, el epiplón mayor y las asas intestinales delgadas se envuelven alrededor de las áreas de inflamación y sirven para contener la infección. Esto lleva tiempo pero los abscesos que se desarrollan finalmente, en general, están muy bien localizados. El drenaje linfático y el esfuerzo de la fuerza de gravedad también influyen en la localización de los abscesos.

Dada la diversidad del inoculo bacteriano, un gran número de factores deben estar involucrados en la determinación de qué especie resulta dominante en la infección. Muchas bacterias intestinales pueden crecer en el líquido peritoneal. Es muy probable que la primera línea de defensa sea la movilización de las células fagocíticas que ocurre con rapidez. Por ende, las bacterias que finalmente sobreviven y crecen deben ser bastante resistentes a la fagocitosis. De hecho, muchas son encapsuladas. Este puede ser uno de los motivos principales de la mayor frecuencia de aislamiento del *B. fragilis*, dado que este moos se encuentra entre los miembros del género *Bacteroides* que tiene la cápsula más grande.

Cuando el contenido del colon se derrama la cavidad peritoneal está bien oxigenada y los moos anaerobios altamente sensibles al oxígeno son destruidos. Los primeros microorganismos que resultan numéricamente dominantes son los anaerobios facultativos, en especial *Escherichia coli*. Sin embargo, muchos de los anaerobios estrictos menos sensibles al oxígeno sobreviven y pueden ser aislados del líquido y de la superficie de las células mesoteliales. Por último el sitio de la infección se vuelve cada vez más anaerobio, en parte porque los moos anaerobios facultativos metabolizan el oxígeno presente y en parte porque el sitio se torna cada vez más avascular. Entonces comienzan a predominar los microorganismos anaerobios estrictos sobrevivientes. Esta sinergia entre los diversos microorganismos necesaria para la formación de abscesos se demuestra claramente en el estudio con animales. La inoculación de una sola especie de bacterias intestinales rara vez provoca infección, mientras que la infección con una mezcla de moos anaerobios facultativos y estrictos lleva a la inflamación aguda y la formación de abscesos.

Si las defensas peritoneales no son capaces de erradicar el contenido intestinal derramado, en general se desarrolla un absceso. Las áreas de inflamación se tabican y son rodeadas por una gruesa capa fibrosa que contiene colágeno. En su interior hay leucocitos, bacterias vivas y muertas, y restos celulares.

En los abscesos peritoneales *B. fragilis*, predominante, a menudo está acompañado no solo por microorganismos anaerobios facultativos, sino también por otros microorganismos anaerobios estrictos, como los miembros del género *Clostridium* o los estreptococos anaerobios (*Peptococcus*, *Peptostreptococcus*).

Los abscesos intraabdominales imponen un alto riesgo al huésped porque pueden extenderse hacia sitios cercanos y además constituyen reservorios a partir de los cuales los moos pueden ingresar en el torrente circulatorio. La bacteriemia resultante puede producir un shock séptico o causar infecciones metastáticas en sitios alejados.

Además de *B. fragilis* también se encuentran otras especies de este género en abscesos del tracto genital femenino, en general debido a contaminación con la biota vaginal. Aquí los microorganismos infecciosos ascienden a través del cuello uterino, el útero y las trompas



de Falopio hasta llegar a la vecindad de los ovarios. La infección resultante se conoce como enfermedad inflamatoria pélvica (EIP). La causa predisponente es la cicatrización de las trompas de Falopio debida a infecciones previas por *Chlamydia* o gonococos, lo que altera la acción normal de los cilios de las células epiteliales de las trompas. Los abscesos tuboováricos, que de forma ocasional complican la EIP, a menudo conducen a la infertilidad. El agente causal más común de esta enfermedad no es *B. fragilis* sino *B. bivia*, un habitante común de la vagina humana.

#### **SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS**

Son sensibles a clindamicina, metronidazol, imipenem, carbapenems y las penicilinas de espectro ampliado combinadas con inhibidores de betalactamasas.

Sin embargo hay que tener presente que rara vez es una sola especie bacteriana la causa de estas infecciones. Por este motivo se emplea una combinación de antibióticos o un antibiótico efectivo tanto contra microorganismos aerobios, como anaerobios (clindamicina + gentamicina; ampi-sulbactam)

#### **GÉNEROS PREVOTELLA Y PORPHYROMONAS**

Todos los bacilos productores de un pigmento negro en las colonias en la sangre que previamente se clasificaban como subespecies de *Bacteroides melaninogenicus* se han reclasificado en estos dos nuevos géneros *Porphyromonas* y *Prevotella*. Este último también incluye algunas especies no pigmentadas.

Forman parte de la flora normal de boca, tracto genital e intestinal, y son patógenos importantes en boca, cabeza, cuello e infecciones pleuropulmonares.

*Prevotella melaninogenica*, *Prevotella denticola*, *Prevotella loescheii*, *Prevotella intermedia* y *Prevotella corporis* son miembros de la flora normal de la boca, vías respiratorias superiores y partes blandas subyacentes. *Prevotella bivia* prevalece en la flora vaginal y produce vaginosis e infecciones de origen obstétrico. *Porphyromonas endodontalis* y *Porphyromonas gingivalis* forman parte de la flora normal de la boca y las encías, mientras que *Porphyromonas asaccharolytica* se halla en la flora intestinal.

La morfología celular depende del origen de los microorganismos: a partir de medio sólido son cocobacilos pequeños, pero a partir de caldo son bacilos más largos y con marcado pleomorfismo. Las colonias en agar sangre por lo común son convexas, lisas, circulares, algunas veces betahemolíticas y habitualmente pigmentadas, adquieren un color tostado a negro en 2 a 21 días. La vitamina K y la hemina son necesarias para la proliferación de la mayor parte de las cepas, o la estimulan mucho.

Se ha visto que producen polisacárido capsular que es inmunogénico y específico de especie. El lipopolisacárido de estos microorganismos al igual que en *Bacteroides* es diferente de aquel de los microorganismos Gram negativos anaerobios facultativos, y su potencia biológica es variable. La producción de enzimas como la colagenasa y otras enzimas proteolíticas, así como el polisacárido capsular son los principales factores de virulencia en las cepas que los producen. Los aislamientos clínicos pueden producir betalactamasa y algunas cepas son resistentes a las penicilinas y a ciertas cefalosporinas.

Estos son agentes causales importantes de infecciones orales, pulmonares, pelvianas, intraabdominales y de partes blandas.

#### **GÉNERO FUSOBACTERIUM**

Existen seis especies causantes de infecciones en humanos. El más frecuentemente aislado

es *Fusobacterium nucleatum*, flora normal de la boca, tracto respiratorio superior, tracto genital y gastrointestinal. Es un agente causal de infecciones orales, abscesos de pulmón, otras infecciones pleuropulmonares e infecciones del líquido amniótico.

*Fusobacterium necrophorum* es un anaerobio muy virulento que puede causar infección ampliamente diseminadas. Es el agente etiológico principal de la Angina de Vincent (asociado a *Borrelia*), infección necrótica de amígdalas y faringe, que presenta un exudado purulento membranoso, acompañada de mal olor. Además se halla en una variedad de infecciones subdiafragmáticas. Su hábitat normal es el tracto gastrointestinal.

Típicamente son bacilos largos con extremos acintados o filamentos delgados. Algunos como *F. necrophorum* son más abultados en su sector medio. Producen alfa y beta hemólisis en los cultivos en agar sangre, y las colonias son translúcidas, de formas varias y a veces irregulares.

La mayor parte de las fusobacterias son susceptibles a la penicilina G y las cefalosporinas más antiguas, además de los agentes anaerobios más activos (clindamicina, metronidazol).

## Cocos gramnegativos

### VEILLONELLA PARVULA

Pequeños cocos gramnegativos en diplococos o cadenas cortas y racimos, miembros de flora bucal, intestinal y genital, se aísla de materiales clínicos, pero es dudoso y desconocido su poder patógeno.

## Bibliografía

- Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA Microbiología Médica. 4ª ed 2002 Mosby, Elsevier España.
- Prescott, Harley, Klein. Microbiología. Mc Graw-Hill Interamericana de España. 4ª ed.1999.
- Schaechter M, Medoff G, Eisenstein BI, Guerra H. Microbiología. Mecanismos de las enfermedades infecciosas. Ed Panamericana. 2ª ed. Buenos Aires 1993
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS Ed. Bailey&Scott's Diagnostic Microbiology. Sección 12. Anaerobic Bacteriology. Pp 511-537. Mosby, 11a. ed. 2002.
- Acuña A, Alfonso A, Algorta G, Anchieri D y col. Enfermedades transmitidas por alimentos en Uruguay. Publicación OPS-Instituto de Higiene, Abril 2002. Pág 101 a 105.
- Jasinski C, Tanzi MN, Schelotto F, Varela G, Zanetta E, Acuña AM, Arenas C, Gadea P, Sirok A, Betancor L, Grotiuz G, Sandin D, Combol A, Xavier B, Vignoli R, Naicrac A. Effect of *Lactobacillus casei* included in oral rehydration solution for treatment of infant acute diarrheal illness. Clínica Pediátrica 22(7): 221-243, 2002.