

AGENTES DE DIARREA. GASTROENTERITIS

Ma. Belén Amorín, Felipe Schelotto, Héctor Chiparelli

DEFINICION Y UBICACION DEL TEMA

Nos referiremos en este capítulo a las bacterias y virus que son causa de diarrea.

Como concepto, la diarrea implica un aumento de la frecuencia y una disminución en la consistencia de las deposiciones. En niños menores de 2 años, la OMS define la diarrea como la producción de 3 o más deposiciones líquidas o semilíquidas en 12 horas, o de al menos una con sangre o mucus y pus.

Tiene habitualmente un origen infeccioso, bacteriano, viral o parasitario. Este hecho no es a menudo reconocido por la población, las madres o aun los médicos: se adjudica el origen de la diarrea al calor, a intolerancia para algún alimento, a tóxicos químicos en brotes de toxiinfección alimentaria, etc.

Involucra muchas veces alteraciones funcionales o inflamatorias a nivel intestinal, con frecuente repercusión gástrica, configurando una gastroenteritis. Estas afecciones tienen habitualmente un origen exógeno, con excepción de algunas formas de diarrea post-antibioterapia. Incluso aquellas formas de diarrea causadas por *E.coli* son debidas a cepas de esa especie que no forman parte de la flora normal.

Los patógenos que ingresan al tracto digestivo encuentran un conjunto de obstáculos para la colonización intestinal que incluyen la acidez gástrica, la motilidad peristáltica, la flora normal y su efecto de interferencia, la integridad estructural y funcional de la mucosa, la actividad de IgA secretoria luminal y los fagocitos parietales, etc. La posibilidad de sortear estas defensas y provocar enfermedad depende de los atributos patogénicos microbianos o de condiciones orgánicas del huésped que lo colocan en situación de desventaja.

La diarrea infecciosa es una enfermedad de curso **agudo**, o **persistente** si dura 14 días o más. En términos generales es una entidad frecuente y habitualmente benigna: la letalidad es baja y se presenta sobre todo en pacientes debilitados (niños, desnutridos, inmunodeprimidos), pero la mortalidad tiene significación debido a la elevada morbilidad.

Epidemiológicamente, tienen especial interés la diarrea

en el niño y el lactante, por su potencial gravedad, y las llamadas toxiinfecciones alimentarias, que pueden dar lugar a brotes extensos. En la actualidad, es importante prestar atención a las diarreas en los pacientes HIV+, en los tratados intensamente con antibióticos, y mantener vigilancia sobre el Cólera. Los microorganismos causales en las distintas situaciones son muchas veces los mismos, por lo cual los trataremos más adelante en conjunto. Presentamos, sí, los agentes etiológicos más frecuentes en cada proceso (cuadro I), y una mención, a propósito de cada germen, de cuál es su importancia relativa en cada situación.

La diarrea infantil es una enfermedad endémica, esporádica o epidémica, donde la transmisión de los gérmenes es fecal-oral por contacto interhumano, fomites, o a través del agua y alimentos. Las toxiinfecciones alimentarias (ej.: Salmonelosis a partir de mayonesa) son brotes que ocurren cuando 2 ó más personas que compartieron un alimento desarrollan, en un plazo que es habitualmente menor de 72 horas, enfermedad gastrointestinal o neurológica por presencia en el alimento de microorganismos o sus toxinas. En pacientes HIV+ y en los tratados con antibióticos, los gérmenes responsables pueden tener el mismo origen que en las situaciones antevistas, o pueden ser de transmisión sexual (HIV positivos) o de fuente endógena (en ambos).

Diarrea infantil. Importancia

Las enfermedades diarreicas constituyen en el mundo subdesarrollado, y en concreto en la mayoría de los países de América del Sur y Central, la causa más frecuente de enfermedad infantil después de las infecciones respiratorias. Se calcula que se producen mundialmente cerca de 1000 millones de casos por año, y se estima que cerca de 5 millones de niños mueren anualmente, la mayoría antes de los 2 años de edad.

En nuestro país, en el marco del Programa de Control de Enfermedades Diarreicas apoyado por OPS, los programas locales de educación, prevención y rehidratación oral contribuyeron en los años 80 a reducir la morbilidad y la mortalidad por esta causa,

que era de 3,6 por 1000 nacidos vivos en 1975. Un descenso adicional se produjo tras la campaña de prevención del cólera (1991-92), si bien los efectos de la misma se han atenuado actualmente.

En el cuadro II se observa la evolución descendente de la tasa nacional de mortalidad infantil por diarrea (muertes en menores de 1 año por 1000 nacidos vivos). Casi todos los decesos se producen en el período postneonatal (28 d-1 año), y la tasa es actualmente menor de 0,5.

Las tasas globales ocultan sin embargo importantes desigualdades y problemas. La morbilidad y la mortalidad son mayores en los sectores de población más desprotegidos (bajo nivel socio-económico y cultural, zonas urbanas marginales y algunas de frontera).

La incidencia de diarrea en menores de un año es promedialmente menor que un episodio por niño por año, en el conjunto del país, pero mostró ser cercano a 5 en un estudio realizado con nuestra participación en un barrio periférico de Montevideo.

El riesgo de enfermedad depende de **factores ambientales** (es especialmente elevado en grupos poblacionales pobres, sin provisión segura de agua potable, sin saneamiento, y con escasa información y educación para la Salud referida a higiene personal y alimentaria, regulación familiar y promoción de la lactancia materna) y de **factores individuales** dependientes de aquellos: la inmadurez e inexperiencia inmunológica del lactante, la falla frecuente de aporte de leche materna, que constituye el alimento más completo durante los 6 primeros meses de vida, y la desnutrición que se acentúa con la enfermedad creando un círculo vicioso. Los factores desencadenantes están representados por los diferentes microorganismos y parásitos que describiremos.

Es una afección estacional. El 63% de los casos denunciados al MSP en los últimos años corresponde al período Diciembre-Marzo.

Las internaciones son todavía frecuentes más tarde en el año. La mortalidad se asocia actualmente a los casos que evolucionan sin cuidados de rehidratación y realimentación, a las diarreas invasivas con repercusión sistémica o localizaciones extraintestinales, y a los procesos persistentes que ocurren en especial en lactantes procedentes de medio socioeconómico muy carenciado, con déficit nutricional previo y severa repercusión vinculada a la enfermedad.

Tipos. Etiología.

La enfermedad diarreica aguda se considera de tipo **coleriforme** (parecida al cólera) cuando cursa con heces líquidas, en general abundantes, sin sangre, mucus o pus. No se acompaña en general de fiebre, y los agentes causales, que se localizan en el intestino delgado, no provocan acción patógena ni reacción inflamatoria morfológicamente ostensible. No se observan leucocitos en las materias fecales. Los agentes causales en el niño son habitualmente *E.coli* enteropatógeno o enterotoxigénico, *Rotavirus*, *Cryptosporidium* u otros microorganismos.

Hablamos de diarrea de tipo **invasivo** o **disenteriforme** cuando se presenta con materias líquidas o semilíquidas acompañadas de la emisión de sangre, mucus o pus, y presencia de leucocitos en la observación microscópica, en especial cuando es causada por *Shigella*. Se puede asociar con fiebre, alteraciones morfológicas e inflamatorias a nivel del colon, y extensión extraentérica de entidad y frecuencia variable. Los microorganismos responsables son *Shigella*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *E.coli* enteroinvasor, *Yersinia enterocolitica* o parásitos de diverso tipo.

La persistencia de la diarrea no parece vincularse con grupos especiales de agentes patógenos, ni con situaciones de multiparasitismo, sino con factores defensivos, constitucionales o ambientales de otro tipo. La diarrea intrahospitalaria no está asociada en especial a patógenos invasivos o especialmente agresivos, sino a condiciones de manejo de los pacientes que favorecen la infección cruzada y la persistencia de los gérmenes en el ámbito nosocomial. Puede ser causada por bacterias de distinto tipo, virus o parásitos. Cuando son bacterias las responsables, pueden sin embargo poseer particular resistencia a los antibióticos seleccionada por su exposición reiterada a los mismos.

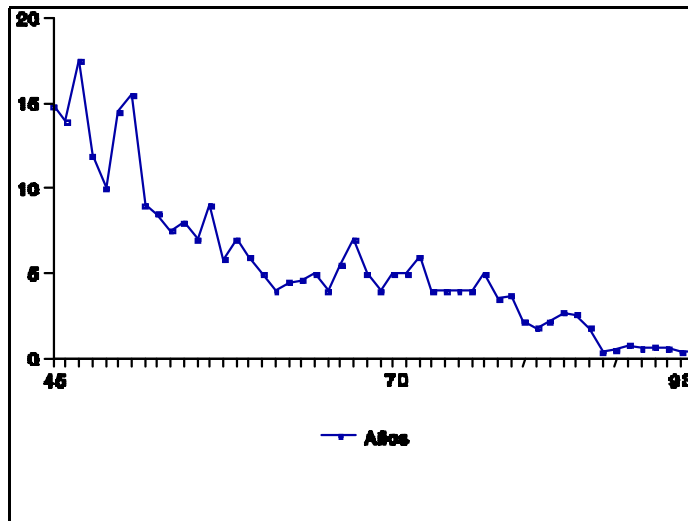
En todas las variantes de diarrea infantil mencionadas (líquida, con sangre, comunitaria, hospitalaria, persistente) el agente patógeno más frecuentemente identificado es *E.coli* patógeno entérico, en especial de los grupos enteropatógenos O:111, O:119 y O:55. Esta ha sido la realidad local de los últimos 30 años. No coincide con la prevalente en países desarrollados, donde predomina Rotavirus, ni con la de otros países pobres, aún cercanos, donde otros patógenos bacterianos o parasitarios son preeminentes.

CUADRO I

AGENTES ETIOLOGICOS BACTERIANOS Y VIRALES MAS FRECUENTES EN CADA PROCESO

.....		
•ENFERMEDAD DIARREICA INFANTIL:		•
.....		
•Escherichia coli	•	•
	•	•
	•	•
	•	•
.....		
•Rotavirus	•	•
.....		
•Campylobacter jejuni	•	•
	•	•
•Shigella	•	•
	•	•
	•	•
.....		
•Salmonella	•	•
	•	•
	•	•
.....		
•TOXIINFECCION ALIMENTARIA		•
.....		
•Salmonella	•	•
	•	•
.....		
•Staphylococcus aureus	•	•
.....		
•Otros	•	•
	•	•
	•	•
	•	•
	•	•
.....		
•DIARREA EN PACIENTES HIV (+)		•
.....		
•1. Agentes habituales de diarrea: Shigella, Salmonella,		•
• Campylobacter.		•
.....		
•2. CMV y Mycobacterium avium-intracellulare.		•
.....		
•3. Patógenos de transmisión sexual.		•
.....		
•DIARREA POST-ANTIBIOTERAPIA		•
•Clostridium difficile		•
.....		

Grafica 1. Mortalidad infantil por diarrea.



Toxiinfección alimentaria

Ya hemos definido el concepto. Se presenta habitualmente como brotes de gastroenteritis de origen común, donde el alimento y sus características operan como factor determinante sobre la relación huésped-germen.

No es siempre sencillo deslindar esta forma epidemiológica de las gastroenteritis llamadas "esporádicas", o de los brotes producidos por transmisión fecal-oral, de persona a persona, en especial porque algunos de los patógenos involucrados pueden difundir de uno u otro modo.

El concepto de "toxiinfección alimentaria" es más restringido que el de enfermedad infecciosa de origen alimentario, que puede incluir patologías tan diversas como la tuberculosis de origen bovino, la listeriosis, la brucelosis, la fiebre Q, estreptococcias, etc. Novedad reciente: BSE y CJD: encefalitis espongiiforme bovina y enfermedad de Creutzfeld-Jacob humana.

Las toxiinfecciones alimentarias son así llamadas porque pueden presentarse como procesos infecciosos intestinales donde intervienen toxinas de síntesis y acción local (enterotoxinas, de *E.coli* o de *C.perfringens*, por ej.). Alternativamente pueden presentarse como infecciones (virales, por ej.) sin intervención de toxinas, o como verdaderas intoxicaciones, donde las toxinas están preformadas en el alimento (*S.aureus*).

No consideraremos expresamente en este capítulo los procesos provocados por la ingestión de toxinas de protozoarios dinoflagelados concentradas en moluscos (marea roja); tampoco nos referiremos a la enfermedad provocada por micotoxinas o por giardias u otros parásitos.

El alimento que da origen a la toxiinfección puede ser simple vector que provee protección o permite la supervivencia de los patógenos que contiene (puede ser el caso con *Campylobacter*, *Shigella*, virus, *Vibrio*), o puede operar también como substrato de multiplicación de los mismos, como sucede con los agentes etiológicos más frecuentes: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*.

La T.I.A. es la causa más frecuente de enfermedad transmitida por alimentos, contra la opinión habitual, no informada, que jerarquiza la incidencia de los tóxicos químicos.

Es habitualmente benigna y autolimitada. Sin embargo, su estudio es importante por:

- la alta morbilidad, desconocida con precisión en nuestro país, aunque algunos brotes recientes la han confirmado;
- la letalidad elevada del botulismo, y la gravedad de las gastroenteritis en los niños pequeños (los brotes suelen afectar a personas de diversa edad y condición previa de salud);
- la luz que arroja sobre la higiene en la

producción y manejo de los alimentos, con las implicancias económicas que esto tiene en un país donde ellos representan buena parte de las exportaciones.

El principal factor de riesgo de toxiinfección consiste, en nuestro medio, en el calentamiento inadecuado o insuficiente del alimento (cocción o tratamiento térmico previo tipo pasterización, por ej.). Si este factor de riesgo se tiene en cuenta y se elimina, la mayor parte de los brotes se previenen.

En nuestro país, las toxiinfecciones alimentarias más frecuentes son:

- las salmonelosis, con período de incubación habitualmente mayor de 10 horas, por consumo de mayonesa no pasterizada y no acidificada, o de derivados cárnicos mal cocidos,
- las toxiinfecciones estafilocócicas, con vómitos y gran malestar en menos de 6 horas, por consumo de derivados lácteos no pasterizados, en los cuales el germen ha proliferado y producido su toxina termoestable.

Ambos tipos de proceso son prevenibles con temperatura adecuada de preparación de los alimentos, y lo son también la mayoría de los otros procesos posibles, incluyendo el botulismo, pues aunque *C.botulinum* es una bacteria esporulada y resistente, la toxina botulínica es proteica y termolábil.

La actual promoción del consumo de alimentos "naturales" no tratados, no desinfectados, no cocidos, y de alimentos "precocidos" localmente o importados sin controles rigurosos, colide con la prevención planteada, inclusive en el marco de la difusión latinoamericana del cólera.

Otras fuentes de riesgo importantes son la temperatura inadecuada de mantenimiento de los alimentos (la refrigeración detiene la proliferación microbiana), el origen inseguro de los mismos (animales infectados, por ej.), la falta de higiene de manipuladores y equipos, y otros.

El cuadro III esquematiza los tipos de toxiinfección alimentaria que es posible diferenciar en función del tiempo de incubación, presencia o no de fiebre, vómitos y cólicos, tipo de diarrea, síntomas neurológicos y otros.

Diarrea en el paciente HIV+

En este grupo de personas, la diarrea forma parte de un conjunto de afecciones digestivas, que se presentan con frecuencia a nivel esofágico, gástrico, hepatobiliar e intestinal.

Son comunes en el paciente HIV+ las diarreas

abundantes con dolor abdominal y pérdida de peso. Se asocian en general con alteraciones observables de la mucosa intestinal, que en la mayoría de los casos están relacionadas con patógenos reconocidos, aunque a veces se interpretan como vinculadas a la misma infección HIV.

Los gérmenes involucrados son de 3 tipos:

- agentes habituales de diarrea como *Salmonella*, *Shigella* y *Campylobacter* entre las bacterias, o parásitos como *Cryptosporidium*, *Giardia Lamblia* y otros;
- *Cytomegalovirus* y *Mycobacterium avium intracellulare*, presentes en lesiones identificables por biopsia a nivel del delgado o del colon;
- patógenos coloretcales transferibles por vía sexual: *Neisseria gonorrhoeae*, *Herpes Simplex*, *Chlamydia trachomatis*, *Treponema pallidum*, agentes de lesiones ulceradas en el intestino distal.

En el paciente HIV+ estas infecciones dan lugar a procesos severos, persistentes o recurrentes, y con frecuencia invasivos, originando bacteriemias y localizaciones secundarias de *Salmonella*, *Campylobacter*, *Neisseria* y otros.

No contamos en el país con estudios sistemáticos, etiológicos y epidemiológicos, sobre diarrea en pacientes HIV+, como se han realizado sobre la población pediátrica.

Diarrea en el paciente tratado con antibióticos

El tratamiento con antibióticos no está indicado como rutina en el paciente con diarrea, donde lo fundamental es la reposición hidroelectrolítica y la realimentación. Contribuye sí a la recuperación en el enfermo de cólera, en diarreas invasivas como las producidas por *Shigella* y a veces por *Campylobacter*, y en situaciones donde la evolución clínica hace temer una infección sistémica (ej.: salmonelosis en el lactante o en el paciente HIV+).

Se ha culpado incluso a la antibióticoterapia por la prolongación de la excreción fecal de *Salmonella* tras la infección clínica, o por la complicación con Síndrome Hemolítico Urémico de la infección intestinal por *E.coli* verotóxico. En estos casos, la eliminación de la flora normal parece ser la causa del efecto indeseable de los fármacos.

CUADRO II

TIPOS DE TOXIINFECCION ALIMENTARIA

Gérmenes	Tiempo de incubación	Vómitos	Cólicos	Diarrea	Fiebre	Síntomas neurológicos
Salmonella, Shigella, Campylobacter, EIEC, Y.enterocolitica, V.parahem	10-72 h	+	+	Disenteriforme	+	(-)
V.cholerae, ETEC	6-72 h	(+)	+	Líquida V.C. ++	-	(-)
S.aureus, B.cereus	< 6 h	++	+	+	-	-
C.perfringens, B.cereus	6-16 h	(-)	+	+	(-)	(-)
VTEC	72-120 h	-	+	c/sangre	-	(+ -)
C.botulinum	6-36 h	+	-	(+ -)	-	++

El tratamiento antibiótico instituido por otras causas (infección respiratoria, urogenital, postquirúrgica, etc.) puede dar lugar a alteración de la flora intestinal e instalación de una enterocolitis pseudomembranosa que puede resultar una complicación fatal. Clindamicina, Ampicilina, Cefalosporinas y varios otros antibióticos pueden originar esta enfermedad, independientemente de la dosis, vía o duración del tratamiento.

En décadas pasadas se atribuía a *S.aureus* la responsabilidad por esta afección, pero estudios realizados durante la década del 70 culminaron en la demostración de que el agente causal es habitualmente *Clostridium difficile*, y que el tratamiento con Vancomicina o Metronidazol puede contribuir a controlarla.

AGENTES DE GASTROENTERITIS

Entre los agentes que se han identificado como causa de diarrea, encontramos bacterias, virus y parásitos. Nosotros pondremos énfasis en los primeros, aunque no podemos olvidar que existe un porcentaje no despreciable de casos que son debidos a parásitos de organización más compleja.

Entre los agentes bacterianos más frecuentemente aislados como causa de gastroenteritis podemos distinguir dos grandes grupos: los bacilos Gram negativos y las bacterias Gram positivas, dentro de las

cuales encontramos formas cocoides, como el género *Staphylococcus* y formas bacilares como el género *Clostridium*.

Dentro del primer grupo (BG -) hallamos los géneros y especies que causan más frecuentemente enteritis, como *E.coli* Enteropatógena (EPEC), *Campylobacter spp*, el género *Shigella*, *Salmonella*, *E.coli* Enterotoxigénica (ETEC) etc. Otras aisladas menos frecuentemente son: *E.coli* Enteroinvasiva (EIEC), *E.coli* Enterohemorrágica, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae*, *Aeromonas spp*, etc.

En el segundo grupo destacamos a *Staphylococcus aureus* por un lado, y por otro a *Clostridium perfringens* y *Clostridium botulinum*, gérmenes anaerobios que en situaciones particulares ocasionan cuadros de toxiinfección alimentaria.

Shigella

Las características de estas bacterias y su patogenia ya han sido descritas (ver BG-). Su reservorio es el ser humano. Pueden producir enfermedad esporádica o brotes extensos, e incluso endemias en instituciones cerradas como cárceles o organizaciones para discapacitados. La eliminación fecal de los gérmenes puede prolongarse por varias semanas. Se localizan fundamentalmente a nivel del colon, y provocan diarrea disenteriforme, con presencia característica de abundantes leucocitos en el frotis de materias fecales.

Es habitualmente una enfermedad localizada y autolimitada, pero en especial cuando se trata de niños

CUADRO III

FAMILIA	GENERO
Enterobacteriaceae	Salmonella Shigella Escherichia Yersinia
Vibrionaceae	Vibrio, Aeromonas, Plesiomonas
Campylobacteraceae	Campylobacter

CUADRO IV

ENTEROBACTERIACEAE	VIBRIO	CAMPYLOBACTER
Bacilos	Forma de coma	Forma de alas de gaviota o espirilos
Facultativos	Facultativos	Microaerófilos y capnófilos
Fermentan la glucosa	Fermentan la glucosa	No fermentadores
Oxidasa negativos	Oxidasa positivos	Oxidasa positivos
Móviles peritricos inmóviles	Móviles por flagelo polar	Móviles por flagelo polar

pequeños o pacientes debilitados y la cepa involucrada es *S.dysenteriae* 1 (bacilo de Shiga), se pueden producir alteraciones hidroelectrolíticas, neurológicas (letargia, cefalea, convulsiones) o falla renal en forma de Síndrome Hemolítico Urémico (HUS).

Shigella dysenteriae fue aislada por primera vez por Shiga en 1896, durante una epidemia de disentería en Japón. Produce una toxina, denominada toxina de Shiga, que está asociada al espacio periplásmico y se libera durante la lisis bacteriana. Esta posee una subunidad denominada A que tiene acción enzimática y 5 subunidades chicas B cuya acción es de fijación a la célula intestinal, endotelial, etc., a través de receptores glicolípidos Gb3 de la membrana celular. Una vez que ingresa a la célula por endocitosis, A inhibe la síntesis proteica, clivando un residuo adenina de la subunidad 28 S del ribosoma eucariota, e

inhibiendo la función del factor de elongación 1. Se ha visto que la toxina no es esencial para la invasión ni para la muerte de la célula intestinal. Sí se piensa que juega un rol fundamental en la patogenia del S.H.U.

En nuestro país, *S.dysenteriae* es una bacteria rara. Los 2 aislamientos que tenemos registrados en los últimos 30 años no corresponden al tipo 1. Los casos de SHU que se diagnostican localmente no parecen deberse a este germen, sino a VTEC.

S.boydii se aísla también en forma esporádica.

Las especies de *Shigella* prevalentes en nuestra población son *S.sonnei*, que es lactosa + tardía, y forma en agar MacConkey colonias relativamente grandes y rosadas, confundibles con otras enterobacterias, y *S.flexneri*, que predomina todos los años. Muchas de las cepas de *S.flexneri* y *S.sonnei* recuperadas de los niños montevideanos son resistentes a la Ampicilina, al Cotrimoxazol, o a ambos productos

utilizados muchas veces para el tratamiento de estas infecciones.

Escherichia coli.

Es llamada así en honor del pediatra que la aisló y caracterizó en 1885.

E.coli es un bacilo Gram negativo perteneciente a la familia **Enterobacteriaceae**, móvil, fermentador de lactosa, citrato negativo, que no sólo causa enfermedad diarreica sino una serie de cuadros clínicos diversos: infección urinaria, meningitis, sepsis, etc. Para su clasificación serológica, el Ag O somático integrante del LPS las distingue en serogrupos, y el Ag H flagelar permite completar su ordenamiento en serotipos.

Se reconocen al menos cuatro clases de ***E.coli*** que causan diarrea en el ser humano: ***E.coli*** Enteropatógeno (EPEC), ***E.coli*** Enterotoxigénica (ETEC), ***E.coli*** Enteroinvasora (EIEC) y ***E.coli*** Enterohemorrágica o Verotóxica (VTEC). Cada una de estas clases manifiesta distintas características de patogenicidad, síndrome clínico y epidemiología.

Existiría una quinta clase de ***E.coli*** causante de diarrea, ***E.coli*** Enteroagregativa (EAaggEC, ver BG-) de la cual se discuten aún su patogenia y su importancia.

EPEC. Este término fue usado por primera vez por Neter y col. en 1955. Es la primera clase descrita de ***E.coli*** causante de diarrea, y la más frecuente en nuestro país, en especial en lactantes.

Se han descrito brotes en servicios de recién nacidos. Pertenecen a 10-15 serogrupos característicos, de los cuales los más comunes localmente son O:111, O:119 y O:55.

Fue menospreciado como agente de diarrea cuando se descubrieron las cepas enterotoxigénicas, pero nuevos estudios confirmaron que se trata de una clase patogénica definida y diferente. Hemos confirmado en varias cepas locales, de los serogrupos prevalentes, la presencia del plasmidio de virulencia característico, de 60 Mda, y el patrón típico de adherencia localizada sobre células Hep-2 de cultivo.

Cuando un lactante está cursando una diarrea asociada a esta clase de ***E.coli***, casi todas las colonias identificables en materias fecales pertenecen a la cepa involucrada: se anula la diversidad habitual de serotipos. Algo diferente ocurre con ETEC, y sobre todo con VTEC, que son eliminados en combinación con cepas de la flora normal, en proporción variable según el momento evolutivo del proceso.

La mayor parte de los cultivos EPEC aislados en el Hospital Pediátrico presentan resistencia a múltiples

antimicrobianos.

ETEC. La enfermedad causada por estas bacterias es similar, aunque más leve, que la causada por ***Vibrio cholerae***.

Son agentes muy comunes de diarrea en lactantes de países pobres, y de diarrea del viajero, así llamada porque afecta a habitantes de países desarrollados que se trasladan a zonas carenciadas.

Esta clase de ***E.coli*** causante de diarrea está integrada por numerosos serogrupos y serotipos (O:6, O:8, O:25, O:78, etc.), ya que los determinantes patogénicos (fimbrias y toxinas) están codificados en plásmidos transferibles. Su identificación es compleja, ya que requiere la detección de su DNA característico (sondas o PCR), o la demostración por ELISA de la producción de toxinas en cepas que pueden ser minoritarias en el coprocultivo.

Tienen especial significación patogénica las cepas productoras de LT y ST, o de ST sólo. Las bacterias que forman únicamente LT se recuperan con frecuencia similar en lactantes sanos y enfermos.

En nuestro país, ETEC se aísla con menor frecuencia que EPEC, pero mayor que otras clases de ***E.coli*** patógeno entérico.

EIEC. Las cepas EIEC se asemejan a ***Shigella*** en varios aspectos: la mayoría son inmóviles, anaerogénicos, no decarboxilan la lisina y no utilizan la lactosa (lactosa -). Poseen un plásmido grande que contiene los genes que le confieren la capacidad de invadir las células del colon, y causar diarrea de tipo disenteriforme.

Pertenecen a un conjunto de serogrupos característicos, bien estudiados por la escuela microbiológica brasileña. En nuestro medio hemos aislado pocos cultivos EIEC, de serogrupo O:29 y O:124.

VTEC. Algunos serogrupos de ***E.coli*** como O:26, O:111 O:157 y otros, tienen en común con ***Shigella dysenteriae*** tipo I la producción de sustancias proteicas de acción local y sistémica: toxinas "Shiga like" o verotoxinas, así llamadas por su acción citotóxica sobre cultivos de células Vero de laboratorio. Constituyen una familia de exotoxinas (VT1, VT2, VT2vha, VT2vhb, etc) de composición y acción similar a la toxina de Shiga.

La variedad de serogrupos VTEC es amplia, porque la producción de toxinas no está asociada a los antígenos de superficie, sino a la infección con fagos temperados, que pueden transferirse de uno a otro serogrupo. No

conocemos aún el o los grupos prevalentes en nuestro país. Los cultivos de *E.coli* O:111 y O:26 ensayados no son verotóxicos, y *E.coli* O:157 no ha sido aislado en heces de pacientes.

La infección por VTEC puede ser asintomática, o puede traducirse en diarrea líquida, diarrea con sangre por colitis hemorrágica, Síndrome Hemolítico Urémico (SUH) o Púrpura Trombótico Trombopénico.

Los gérmenes ingresan al organismo por vía digestiva, y colonizan el intestino grueso. La dosis infectante es pequeña (<1000) como la de *Shigella*, y la transmisión puede ser interhumana por vía fecal-oral, o tener como vehículo el agua o alimentos: carne bovina mal cocida u otras, leche, jugos, etc. El período de incubación puede ser hasta de 7 días.

La colitis hemorrágica producida por VTEC (que precede muchas veces al SUH) no es un proceso inflamatorio ni se acompaña de fiebre o emisión de leucocitos fecales como otras diarreas invasivas. No están claros los factores que facilitan su eventual progresión a SUH. Se han mencionado el genotipo microbiano, el uso de antiperistálticos y la densidad y tipo de receptores Gb3 eritrocitarios en el huésped. El tratamiento antibiótico ha sido presentado reiteradamente como causa predisponente, y es discutida su efectividad para controlar la infección, por lo cual debe evaluarse cuidadosamente su aplicación.

VTEC posee adhesinas fimbriales codificadas en un plásmido de virulencia de 60 Mda., y genes cromosómicos y plasmídicos que median un efecto de fijación y borramiento en las microvellosidades similar al que produce EPEC en el intestino delgado. Las citotoxinas son producidas localmente y contribuyen a la patología intestinal, pero al parecer pasan a la sangre produciendo efectos sistémicos que derivan principalmente de la alteración endotelial microangiopática que favorece la fragmentación globular, la glo-merulopatía y otras alteraciones parenquimatosas.

El Síndrome Hemolítico Urémico es una afección presente en todo el mundo que se define por la tríada: insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica microangiopática y trombocitopenia.

Es endémico en el Río de la Plata, en especial en Argentina, donde se producen en promedio 22 casos anuales por cada 100000 niños menores de 5 años. En nuestro país la cifra se aproxima a 5 (10-14 casos anuales). Ocurre en especial en niños menores de 5 años, en quienes constituye la principal causa de falla renal aguda. El promedio de edad constatado en Uruguay es de 10 meses aproximadamente.

Los casos se presentan en general desde la primavera hasta el otoño. La infección por VTEC es una zoonosis, aunque existe transmisión importante interhumana. Los serotipos citotóxicos colonizan bovinos enfermos y sanos y otros animales, y pueden transmitirse al hombre a partir de los mismos. En Uruguay no hemos constatado, como en otros países, epidemias de origen alimentario. En Australia se ha descrito recientemente el primer brote, provocado por VTEC O:111 en salchichas.

El SUH se manifiesta en especial en niños del Interior del país, aunque no de zona rural, y **no** particularmente carenciados o desnutridos. Como antecedente patológico inmediato presentan en general diarrea, habitualmente con sangre.

El comienzo de la enfermedad es usualmente brusco, con instalación súbita de inquietud, palidez intensa y oliguria, en general sin fiebre. Se observan con frecuencia petequias, pero raramente sangrado franco extradigestivo. Puede haber hipertensión, alteraciones hepáticas o cardíacas, y manifestaciones neurológicas (somnia, irritabilidad, ataxia, convulsiones, coma), que son graves en 1/5 a 1/3 de los casos, y se interpretan como secundarias a las alteraciones hidroelectrolíticas, la hipertensión y la microangiopatía encefálica.

Más de la mitad de los pacientes necesitan diálisis. La letalidad resultante es menor de 10%, pero se presentan secuelas significativas. Al menos 2 de cada 100 pacientes progresan a la insuficiencia renal extrema, que requiere diálisis crónica.

Salmonella

En el lactante *Salmonella* produce diarrea líquida o diarrea de tipo disenteriforme, con o sin presencia de sangre en materias fecales. (La patogenia de estas infecciones ha sido discutida en el capítulo de Bacilos Gram

Hemos contribuido a estudiar hace pocos meses en niños hospitalizados un conjunto de casos de diarrea con sangre por coinfección con *Salmonella* y con *Campylobacter jejuni*.

En este grupo etéreo *Salmonella* da origen con frecuencia a enfermedad invasiva sistémica. En adultos inmunocompetentes, ello ocurre sólo con *S.typhi*, y a veces con *S.cholerae suis* y otras, pero en los niños puede ocurrir con muchos serotipos. Esto fue estudiado y descrito por la escuela microbiológica uruguaya, que contribuyó históricamente al estudio de las gastroenteritis infantiles y sus agentes etiológicos (identificación de *Salmonella montevideo*, *S.cerro*,

S.bertha y otras). Funciona actualmente en el Instituto de Higiene, Departamento de Bacteriología y Virología, el Centro Nacional de Salmonelas, que realiza la identificación bioquímica y antigénica de cepas aisladas en el país o en el exterior, y que ha aportado al estudio y control de los últimos brotes.

Salmonella es localmente el agente principal de toxiinfección alimentaria. Son conocidos los brotes epidémicos recientes originados en alimentos preparados con huevos crudos contaminados con *S.enteritidis* u otras. Los huevos se pueden contaminar en el oviducto del animal o en el exterior a través de su superficie. La conservación a temperaturas inadecuadas favorece la proliferación de los gérmenes indeseables.

En términos generales, la mayoría de las toxiinfecciones por *Salmonella* en el hombre son consecuencia del consumo de alimentos de origen animal y sus subproductos (huevos, embutidos, etc.).

El alimento puede estar contaminado porque el animal del cual derivó estaba enfermo, porque el mismo fue transportado o faenado en una planta conjuntamente con otros animales infectados, o porque los alimentos se contaminaron durante su preparación. Con escasa frecuencia esto último ocurre a partir de portadores humanos del germen que manipulan alimentos. (El hombre puede excretar *Salmonella* durante meses después de la infección clínica, o en forma permanente con reservorio habitualmente biliar).

La dosis infectante es en general alta para el adulto (10^5 - 10^7), y menor en el niño, en especial el lactante.

El período de incubación de la enfermedad es de 8 a 48 horas. El paciente presenta náuseas, vómitos, fiebre, diarrea y cólicos abdominales. La duración habitual de la enfermedad es de 1 a 4 días, pero se puede prolongar. El hallazgo del germen en heces y en el alimento confirma la etiología.

Yersinia enterocolitica

Es un bacilo Gram - de la familia Enterobacteriaceae, causante de diarrea aguda y diarrea persistente. Posee la característica de crecer mejor *in vitro* a 28 que a 37°C, y de desarrollar también a 4 grados, siendo esta última la causa de la existencia de brotes de infección intestinal a partir de agua o alimentos conservados (leche, pescado, carnes, especialmente porcina), o de infección parenteral con origen en derivados sanguíneos refrigerados.

La mayor parte de las cepas utilizan tardíamente la lactosa y desdoblan la urea, apareciendo en placas de aislamiento sobre agar MacConkey como colonias débilmente rosadas y con olor ligeramente amoniacal,

visibles en 24 hs sólo por cultivo a 25-28°, no a 37°C.

Son relativamente frecuentes como agentes de gastroenteritis en países fríos (Canadá, Suecia, Bélgica). En el nuestro son escasos los aislamientos clínicamente significativos.

Y.enterocolitica posee un plásmido de virulencia de 40-45 Mda. que le confiere expresión de ciertas proteínas de superficie, invasividad, resistencia al suero humano normal, y otras propiedades.

Campylobacter

Es un género de bacilos Gram negativos, de forma curva semejante a una "gaviota", o de aspecto espirilar. La especie *C.jejuni* es la responsable de más del 95% de los casos de diarrea por *Campylobacter*. La importancia de este enteropatógeno se demostró en época relativamente reciente, cuando se dispuso de técnicas y medios de cultivo especiales y se conocieron sus condiciones de crecimiento. Necesita de medios ricos para crecer, una temperatura óptima de 42-43 grados y un ambiente escaso en oxígeno (microaerófilo).

Es agente común de diarrea aguda comunitaria (EPEC, *Rotavirus*, *Campylobacter*, etc.). En niños hospitalizados es la causa más frecuente de diarrea con sangre, después de *Shigella*. Se acompaña en general de fiebre y dolores abdominales. La concentración de leucocitos fecales eliminados en estos procesos es menor que en las shigelosis. Igual ocurre para *Salmonella* o *Y.enterocolitica*. En algunos casos se produce invasión sistémica y bacteriemia.

Las infecciones por este germen predominan en verano, pero se siguen observando en otoño y ya iniciados los fríos. El reservorio de *Campylobacter* es muy extenso, ya que la mayor parte de los animales domésticos puede ser afectado y transmitir la infección por sus heces, o por los alimentos que de ellos se obtienen, si bien la bacteria no se multiplica habitualmente en los mismos. Es también frecuente la transmisión fecal-oral interhumana. La mayor parte de los infectados excretan el germen durante 4-7 semanas.

Aun se discute la patogenia de la diarrea producida por *C.jejuni*. Muchas cepas son invasoras de las células epiteliales; algunas producen citotoxinas y otras elaboran enterotoxinas semejantes a las de *V.cholerae* o de *E.coli*. Existen otras especies como *C.coli*, *C.laridis*, etc., que han sido asociadas a diarrea en humanos.

VIBRIONACEAE. La familia vibrionaceae (nombre derivado de su movilidad "como vibrando") incluye

varios géneros. El más relevante en relación con gastroenteritis es el género *Vibrio*.

V.cholerae

Fue descrito por Koch en 1883 como agente del cólera. Pocos años después, en 1886, se producía en Uruguay una epidemia que tuvo origen en habitantes de Buenos Aires, infectados a su vez por viajeros procedentes de Europa. Las fuentes comunes de infección en Montevideo fueron los depósitos de agua del actual Hospital Pasteur y de un cuartel del Buceo, y los estudios microbiológicos fueron realizados en el laboratorio que luego sirvió de base al Instituto de Higiene Experimental, inaugurado en 1896.

El cólera es actualmente una enfermedad contenible, siempre que se cuente con recursos de prevención (saneamiento, agua potable) y de asistencia adecuados. Los informes epidemiológicos de 1996 reportan nuevos brotes en Ecuador, Colombia, en Asia y varias regiones de África. En regiones de América que han desarrollado buen acceso de los pacientes a atención primaria y rehidratación, la letalidad de la enfermedad no pasa del 1%. En Nigeria, en cambio, la letalidad ha superado el 10%.

La fuente principal de los brotes sigue siendo el suministro de agua contaminada. La dosis infectante para la persona normal es habitualmente alta (10^4 - 10^8). Es impensable que no haya llegado en algún momento a Uruguay, en los últimos años, un viajero enfermo o portador de *V.cholerae* (hay 10 a 40 infectados asintomáticos por cada enfermo, y la excreción fecal puede prolongarse por tiempos variables). Lo que ha ocurrido probablemente es que las condiciones y medidas de Salud Pública locales han impedido su difusión a través del agua, alimentos, o de persona a persona.

Cuando el germen ingresa en una región virgen de infección, todos los grupos etáreos son igualmente afectados. En zonas endémicas, la incidencia es máxima en niños mayores de 2 años, sin inmunidad adquirida activa o pasivamente (transplacentaria, lactancia).

De acuerdo a los bajos niveles séricos prevalentes de anticuerpos vibriocidas, y al tipo sanguíneo predominante en nuestra población (tipo "O", 46%, el más *V.cholerae* susceptible), los uruguayos son potencialmente vulnerables a la infección con.

Desde 1991 hemos incorporado en la rutina de estudio coprobacteriológico en el Departamento de Bacteriología y Virología la investigación de *Vibrio* en

TCBS. Tras cientos de estudios, no hemos aislado en ningún paciente la cepa epidémica. De un lactante hospitalizado con diarrea se recuperó *V.cholerae* no O1, no toxigénico.

Otras especies, como *V.parahemolyticus* o *V.fluvialis*, que producen gastroenteritis por ingestión de agua contaminada o productos del mar, no han sido investigadas en forma cuidadosa en nuestro medio.

Las cepas de *V.cholerae* prevalentes en América pertenecen al biotipo El Tor. Este difiere del clásico en algunas propiedades bioquímicas (VP), capacidad de hemaglutinación, hemólisis, sensibilidad a bacteriófagos y a Polimixina B en disco de 50µg.

Este biotipo presenta a su vez variantes. Actualmente circulan 4 clonas reconocidas: la de la 7ª pandemia, la del Golfo, la de Australia, y la latinoamericana, que se suman a las cepas de *V.cholerae* O:1 clásico, con pocas variantes, y O:139, en Asia. Como las cepas comunes de la 7ª pandemia, *V.cholerae* El Tor que circula en Sud América es no hemolítica.

El reservorio de *V.cholerae* es humano. La sobrevivencia del germen en el ambiente (agua, alimentos, suelo) es variable, pero en general corta: horas o pocos días. Hay sin embargo, evidencias de que ciertas cepas de *V.cholerae* O1, biotipo El Tor, pueden persistir en un reservorio ambiental. Desde 1973, se ha informado sobre casos esporádicos de cólera en la costa del Golfo de México, asociados con la ingestión de mariscos crudos o cocidos incompletamente. En octubre de 1992 se observaron en la India casos de cólera que no eran producidos por *V.cholerae* O1, sino por el serogrupo O:139. Se diseminó en forma epidémica en los alrededores de Bangladesh produciendo en pocos meses cientos de miles de casos que afectaron fundamentalmente a menores de 15 años. Se teme aún que este germen pueda dar lugar a una octava pandemia. El agua es su vehículo principal de transmisión. La patogénesis es similar a la de la enfermedad producida por *V.cholerae* O1. El germen es igualmente toxigénico.

Un hecho llamativo es que *V.cholerae* O:139 puede expresar un polisacárido capsular análogo al descrito en otros *Vibrio* N° O1. Clínicamente, se ha visto que a diferencia de *V.cholerae* O1 puede causar infección extraintestinal en pacientes inmunocomprometidos.

La metodología para aislarlo es idéntica a la que se utiliza para *V.cholerae* O1. Para identificación debe tenerse en cuenta que no es sensible al compuesto vibriostático O 129.

La exposición a *V.cholerae* O1 protege contra la reinfección, pero no previene la enfermedad por

V.cholerae O139, lo cual debe tenerse en cuenta para la eventual inmunización activa.

El período de incubación del cólera es de 12 a 72 hs, dependiendo de la dosis infectante y de factores personales y microbianos. Tienen mayor riesgo de enfermar las personas con hipoclorhidria gástrica.

El sitio primario de infección es el intestino delgado. La pérdida de fluidos es máxima a nivel del yeyuno. La infección es tóxica, no invasiva y no inflamatoria. (Ver patogenia en capítulo de BG-).

Los signos prominentes de la enfermedad son la diarrea líquida abundante (agua de arroz) y la deshidratación, a veces acompañadas de dolores cólicos y vómitos. Sin tratamiento antimicrobiano, la diarrea persiste 4-6 días. La muerte puede sobrevenir por hipoglicemia, desbalance hidroelectrolítico extra e intracelular que afecta la función celular, hipoperfusión de órganos críticos, insuficiencia renal, arritmias y shock.

***Aeromonas hydrophila.* (y *A.caviae*)**

Son bacterias Gram negativas, oxidasa positivas, pertenecientes a la Familia **Vibrionaceae**, que normalmente se encuentran en el medio acuático. Han sido incriminadas como causa de diarrea principalmente en niños, pero también en adultos. La evidencia en tal sentido es todavía incompleta.

Se han descripto tres formas clínicas de diarrea asociada a *A.hydrophila*:

1. Gastroenteritis leve consistente en deposiciones líquidas, fiebre baja y vómitos ocasionales.
2. Diarrea disenteriforme.
3. Diarrea prolongada con una duración mayor de 2 semanas. Se piensa que se transmite por ingestión de agua contaminada y se ha comprobado que puede sobrevivir en agua para consumo humano con niveles standard de clorinación.

Plesiomonas shigelloides. Es otro microorganismo acuático Gram(-) de la familia **Vibrionaceae** que puede causar diarrea de modo similar a *Aeromonas*, a través del agua o de alimentos marinos.

Staphylococcus aureus

Es flora transitoria de la piel y en especial de las fosas nasales. También puede encontrarse en número reducido en el colon y la vagina. Prácticamente todas las personas son portadoras de este germen en uno u otro momento de su vida. Es causa de gran variedad de infecciones, incluyendo lesiones de piel de diverso tipo y entidad.

Como causa de toxiinfección alimentaria, la fuente de contaminación de *S.aureus* suele ser un manipulador de alimentos que elimina gran cantidad de gérmenes enterotoxigénicos a partir de la nariz o de lesiones cutáneas activas. Raramente el germen tiene origen bovino. En el alimento contaminado, que no recibe cocción o tratamiento térmico adecuado, y que se mantiene a temperaturas intermedias, sin refrigeración, la bacteria prolifera y sintetiza proteínas tóxicas. Se necesita habitualmente más de 10^5 bacterias por gramo de alimento para que se forme una concentración de enterotoxina (es suficiente $<1\mu\text{g/g}$) capaz de producir enfermedad.

S.aureus tolera altas concentraciones de sal y otros solutos, y sus enterotoxinas (no el germen) pueden resistir 100°C durante 15 a 30 minutos, por lo cual no son adecuadamente destruidas por cocción o pasterización una vez producidas. Las cremas, quesos, o pasteles preparados con ingredientes no pasterizados, o las carnes, jamón y pollo pueden ser vehículo de enfermedad.

La TIA estafilocócica y todos sus síntomas son provocados por la enterotoxina ingerida con el alimento. Las bacterias, si están presentes, transitan el tubo digestivo y son excretadas. El período de incubación es corto (1 a 6 hs.); la enfermedad comienza bruscamente con intensas náuseas, cólicos, vómitos y, generalmente, diarrea con postración; no se presenta habitualmente fiebre; los síntomas ceden en uno a 2 días; raramente se produce la muerte, en personas con otras enfermedades de base.

Las toxinas de *S.aureus* que provocan este cuadro no parecen ajustarse al concepto común de enterotoxinas como sustancias exotóxicas bacterianas de acción local sobre la secreción y absorción de agua y electrolitos a nivel intestinal. Se interpreta que su actividad deriva de:

- a) El estímulo de terminaciones vagales a nivel de la mucosa gástrica, con violento efecto emético.
- b) Su acción sistémica como "superantígenos", proteínas que no son digeridas y procesadas por las células presentadoras, sino que forman directamente puentes entre las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad y los receptores de las células T. El resultado es el estímulo inespecífico de grandes cantidades de células T y macrófagos, con producción abundante de interleukina 2 y otras citocinas, cuyo efecto al ser inoculadas por vía parenteral es muy similar al observado en estas toxiinfecciones.

Por este efecto, por su secuencia aminoacídica y por la similitud de los genes que las codifican, las enterotoxinas estafilocócicas, que son producidas habitualmente por *S.aureus* de tipo fágico III, se parecen a las toxinas pirogénicas de *Streptococcus pyogenes*, y a la toxina del shock tóxico. Son un conjunto de 7 proteínas muy parecidas (SEA, B, C1, C2, C3, D y E), de las cuales la más frecuente es la "enterotoxina" A. Los genes responsables de su producción son cromosómicos, plasmídicos, o incorporados por bacteriófagos.

Bacillus cereus

Es un bacilo Gram positivo, catalasa positivo, aerobio estricto, esporulado. Es móvil por flagelos peritricos. Produce lecitinasa, y beta hemólisis sobre agar sangre ovina.

Está presente ampliamente en el ambiente, el suelo, las plantas, etc. Los esporos que contaminan los alimentos resisten la ebullición y pueden luego germinar.

Origina 2 tipos de enfermedad de fuente alimentaria:

- Afección emética, breve, muy similar a la causada por *S.aureus*, compuesta por náuseas, vómitos y dolores cólicos acompañados de diarrea en algunos enfermos. El período de incubación promedio es de 2 horas, y el alimento de origen es en general el arroz cocido y no bien refrigerado que ha sustentado la germinación de los esporos, la proliferación bacteriana, y la síntesis de toxina preformada. Se trata de una toxina proteica, termoestable, de molécula pequeña (PM 5000).

- Síndrome diarreico, muy parecido al producido por *Clostridium perfringens*. Se produce a partir de carnes, vegetales, lácteos y otros alimentos. El período de incubación es de 6 a 24 horas, y se presenta con diarrea, cólicos, a veces vómitos y raramente fiebre. Dura de 1 a 2 días, y es causado por una enterotoxina lábil, de liberación intestinal, que activa el sistema adenil ciclasa - AMP cíclico, como las toxinas LT de *E.coli* y CT de *V.cholerae*.

Clostridium perfringens

Es un bacilo Gram positivo esporulado, anaerobio obligado, pero poseedor de cierto grado de aerotolerancia. El responsable de toxiinfección alimentaria es en general el tipo A.

Está presente normalmente en materias fecales humanas, animales, y en el suelo, y a partir de este reservorio puede contaminar los alimentos. Para que se produzca la enfermedad, se requieren habitualmente más de 10^6 microorganismos por gramo. Esto ocurre

cuando el alimento contaminado (carnes, pollo) recibe una cocción insuficiente, que destruye las formas vegetativas pero libera el oxígeno, reduce el potencial redox y permite la germinación de los esporos sobrevivientes. La proliferación de *C.perfringens* se produce durante el enfriamiento lento de volúmenes importantes del producto para consumo de muchas personas, o su mantenimiento a temperaturas intermedias.

C.perfringens tipo A produce, además de la exotoxina α que permite caracterizarlo, una enterotoxina termolábil, que actúa en el epitelio ileal promoviendo la hipersecreción de agua y electrolitos e inhibiendo la absorción de glucosa. Se ha descrito también producción de enterotoxina por algunas cepas del tipo D.

La enterotoxina no se forma en el alimento, sino en el intestino, cuando grandes cantidades de bacterias esporulan tras sufrir el stress ácido del estómago. No es, sin embargo, una proteína vinculada estructuralmente a los esporos, y puede ser excepcionalmente producida en situaciones en que la bacteria no esporula: en pacientes añosos o debilitados y hospitalizados, la modificación de la flora intestinal por el uso de antibióticos puede dar lugar a diarrea por proliferación bacteriana y formación de toxina en el colon.

C.perfringens posee una cápsula polisacáridica que no tiene relevancia en la patogenia de la enfermedad intestinal, pero que presenta diversidad antigénica y permite clasificar las cepas con fines epidemiológicos.

Ocasionalmente, en niños desnutridos, *C.perfringens* puede producir invasión y ulceración de la mucosa, con riesgo de vida.

En su forma habitual, la TIA por *C.perfringens* se desencadena 8 a 18 horas después de la ingestión del alimento. Cursa típicamente con diarrea líquida y cólicos severos, a veces náuseas, y raramente vómitos o fiebre. La enfermedad es habitualmente corta (24 hs) y benigna.

Clostridium difficile

Es también un bacilo esporulado que sobrevive en forma prolongada y está ampliamente distribuido en la naturaleza. Forma parte de la flora normal del 90% de los lactantes, pero de menos de 5% de los adultos sanos. En mayores de 60 años, la proporción de colonizados es alta, y también lo es en pacientes hospitalizados: el germen está presente en 10-30% de los mismos, y es recuperable con frecuencia del ambiente y utensilios.

La enfermedad producida por *C.difficile* es una gastroenteritis caracterizada por proliferación microbiana intraluminal, producción de toxinas y daño mucoso significativo sin invasión. Ocurre casi exclusivamente tras antibióticoterapia y alteración de la flora normal.

La mayoría de las cepas produce una o dos toxinas antigénicamente diferentes: toxina A y toxina B. Son exotoxinas de alto peso molecular formadas durante la fase logarítmica de crecimiento. Los genes que codifican su producción están vinculados y próximos en el cromosoma bacteriano. Ambas tienen un efecto citotóxico que se debe a la alteración de los microfilamentos de actina del citoesqueleto celular. Las modificaciones en el intercambio de fluido y solutos derivan al parecer del daño citotóxico, por mecanismos que son todavía objeto de estudio. La toxina B es 1000 veces más potente que la A en cultivos celulares de laboratorio, pero la segunda parece ser la principal responsable de los efectos in vivo.

El efecto de *C.difficile* puede ser mínimo, o puede implicar una diarrea severa y prolongada, con cólicos, fiebre alta y leucocitosis. Las complicaciones derivan principalmente del desbalance hidroelectrolítico y las pérdidas proteicas que generan hipoalbuminemia. Puede producirse megacolon y perforación intestinal.

La lesión típica observable es la formación de pseudomembranas, que pueden confluir y desprenderse. Se originan en zonas de ulceración mucosa con cambios inflamatorios de la lámina propia, y acumulación de fibrina, mucina, células inflamatorias y epiteliales descamadas, sin inclusión de bacterias ni invasión parietal.

Clostridium botulinum

El botulismo es una intoxicación, más que una toxoinfección. Es un tipo diferente de enfermedad de origen alimentario, poco frecuente en el país, cuyas manifestaciones no son predominantemente digestivas, sino neurológicas.

La exotoxina botulínica, responsable del proceso, es una macromolécula proteica muy activa: la dosis letal 50 LD₅₀ para el ratón es <0.01 ng. Es producida por las bacterias en forma de complejo proteico cuyos componentes no tóxicos contribuyen a proteger la toxina del ácido y proteasas gástricas.

En su forma activa, tras clivaje proteolítico en el tubo digestivo, es una toxina de tipo A-B, compuesta por una cadena B, pesada (100 kDa), de fijación, y una unidad A, liviana (50 kDa), con actividad enzimática.

Cuando es ingerida, la toxina es absorbida a nivel

gástrico, ingresa a la sangre y se fija sobre receptores glicoproteicos o glicolipídicos de las terminaciones periféricas de las neuronas motoras. La cadena A es internalizada, y su región amino terminal opera como endopeptidasa zinc-dependiente que altera las sinaptobrevinas que integran la pared de las vesículas sinápticas, interfiriendo con la liberación de acetilcolina.

Su estructura y modo de acción son similares a los de la toxina tetánica, pero su sitio de actividad es distinto, dando lugar a parálisis flácida, y no espástica como ésta.

C.botulinum es un bacilo Gram positivo, anaerobio estricto, móvil con flagelos peritricos, productor de esporos ovales y subterminales. Existen 7 serotipos conocidos (A-E) de exotoxina botulínica. Una misma cepa puede producir más de un tipo. El tipo C no es patógeno para el ser humano. Los tipos E, F y G pueden ser producidos por otras especies de *Clostridium*: *C.argentinense* (llamado también *C.botulinum* G); *C.baratii*; *C.butyricum*. La exotoxina G es codificada por un plasmidio; los tipos C y D son producidos por conversión fágica. Se asume que los genes de los serotipos A, B, E y F están presentes en el cromosoma bacteriano. Algunas cepas de *C.botulinum* producen además toxinas C2 o C3, de significado discutible.

C.botulinum es habitante normal del suelo, el polvo y los mares, pero no del tracto digestivo del hombre. Los esporos, en especial los de cultivos productores de toxinas A y B, pueden resistir temperaturas superiores a 110°C durante varios minutos. Son precisamente los cultivos productores de toxinas tipo A y B los más frecuentes causantes de contaminación alimentaria y de enfermedad a nivel mundial.

La fuente principal de enfermedad son las conservas caseras o defectuosas de carne y condimentos vegetales. Las cepas productoras de toxina tipo B se aíslan en general de carne de cerdo. Las productoras de proteína tipo E contaminan sobre todo conservas de pescado.

En las conservas bien preparadas, el tratamiento térmico adecuado, el bajo pH y el agregado de NaCl o nitritos son factores que, sumados, multiplican su acción protectora. En productos mal conservados, en cambio (conservas ahumadas, enlatados mal esterilizados por calor, etc.), los esporos pueden sobrevivir, para germinar y proliferar luego al amparo de condiciones de anaerobiosis, y producir toxina que es liberada con lisis bacteriana. El proceso requiere habitualmente 2 a 14 días.

Los alimentos contaminados a niveles de peligro tienen muchas veces sabor o aspecto anormal: rancidez, putrefacción, gas, hinchazón de latas. Si se consumen sin cocinar, la toxina presente en ellos no es destruida (**las toxinas botulínicas son termolábiles, alterables por el calor**).

Todas las cepas de *C.botulinum* son sacarolíticas y lipolíticas. Es variable en cambio su capacidad proteolítica. Se clasifican como tipo I cuando son proteolíticas y productoras de toxina A, B o F; de tipo II cuando son no proteolíticas, y productoras de toxinas B, E o F. Las cepas del grupo III son metabólicamente diferentes, y producen toxinas C o D.

Los alimentos contaminados con cepas no proteolíticas pueden no mostrarse ostensiblemente alterados, como sí ocurre para los que contienen cepas de tipo I.

Excepcionalmente, *C.botulinum* puede infectar heridas profundas, con restos necróticos y déficit de irrigación, y ser allí origen de toxina y de enfermedad. El botulismo del lactante es otra forma rara que ocurre por la ingestión de esporos con la miel u otro vehículo, proliferación y colonización intestinal, producción local de toxina y absorción lenta a nivel del colon.

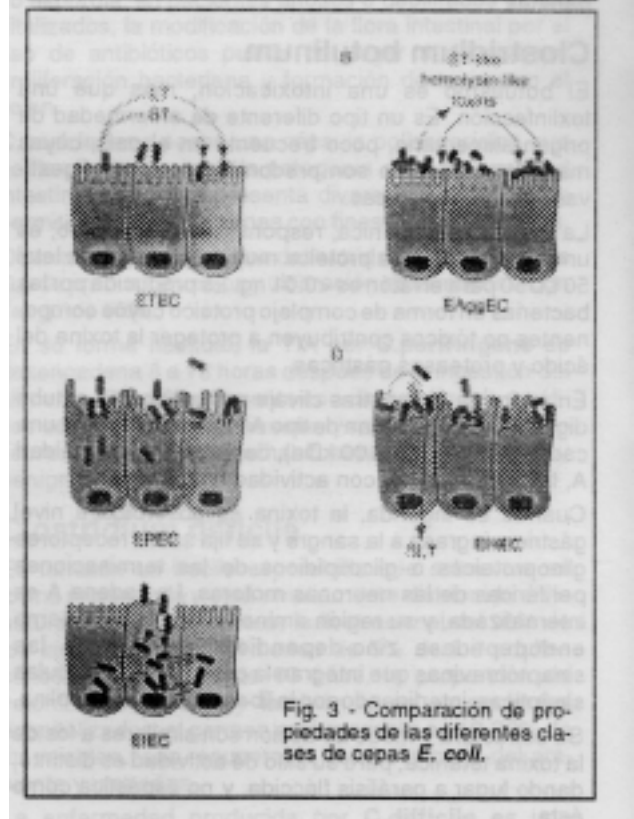
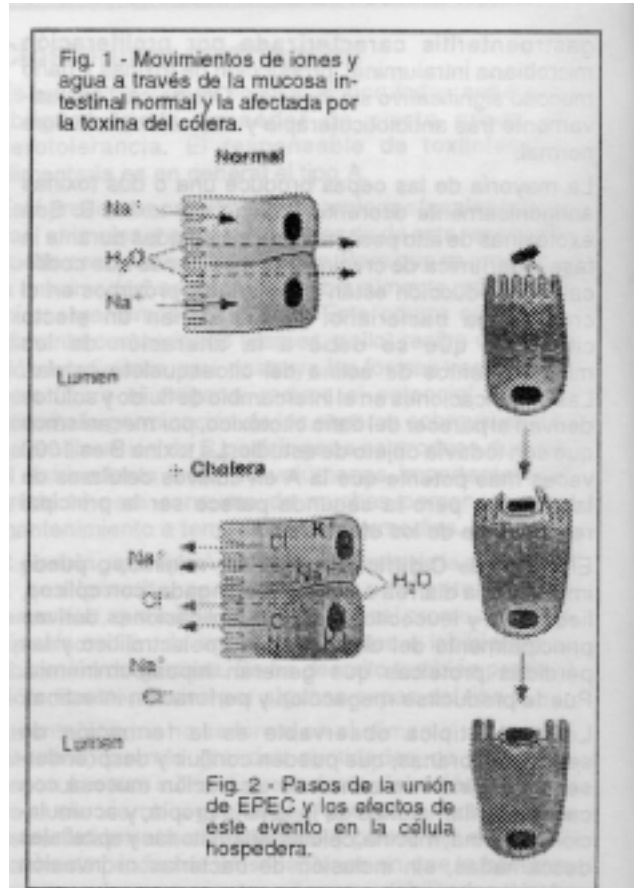
Los síntomas de botulismo aparecen 4 a 36 horas después de la ingesta del alimento contaminado. La rapidez de instalación y la intensidad del cuadro dependen de la cantidad de toxina ingerida.

Las primeras manifestaciones son digestivas: vómitos, sed, constipación o diarrea (esta última sólo en 15% de los casos). La enfermedad neuromuscular debuta con diplopía, y luego disfagia y disartria; más tarde aparece debilidad muscular periférica y parálisis flácida progresiva. La muerte puede sobrevenir por paro respiratorio, neumopatía secundaria o paro cardíaco por hipoxia. Con buen manejo y tratamiento, la letalidad se sitúa en 10-15%. Una vez fijada la toxina a la terminación nerviosa, la intervención externa con antitoxina no tiene efecto sobre esta interacción. Algo de regeneración nerviosa es obtenible, pero los pacientes que sobreviven un episodio de botulismo presentan con frecuencia daño neurológico irreversible.

MECANISMOS PATOGENICOS DE LOS AGENTES ETIOLOGICOS DE DIARREA

Se pueden distinguir en suma 5 tipos patogénicos de agentes bacterianos de diarrea:

1- Bacterias que poseen la capacidad de adherir a la mucosa y producir toxinas. *V.cholerae* y ETEC afectan al intestino delgado en su sector proximal. Las toxinas



son producidas en la luz de éste y alteran la capacidad funcional del enterocito. VTEC produce en el colon citotoxinas cuyo efecto principal se expresa en los endotelios vasculares.

2- Bacterias que causan diarrea por disolución del borde en cepillo de la mucosa intestinal. EPEC a nivel del delgado; VTEC (en parte) en el colon.

3- Bacterias que causan diarrea por invasión de la mucosa y proliferación dentro de la célula intestinal. Es característico de *Shigella* y EIEC. Ambas invaden el enterocito del intestino delgado distal y del colon, donde se multiplican y alteran el funcionamiento de las células causando su muerte.

4- Bacterias que invaden con translocación de la mucosa, proliferación en la lámina propia y acumulación a veces en los ganglios linfáticos. Pertenecen a este grupo especies de *Salmonella* no tifoídicas, *Campylobacter* y *Yersinia enterocolitica*.

5- Bacterias que forman toxinas durante su multiplicación libre en el exterior o en la luz intestinal. La producción de toxinas no está asociada a la adherencia de los gérmenes a la mucosa. *S.aureus*, *C.perfringens* y otros.

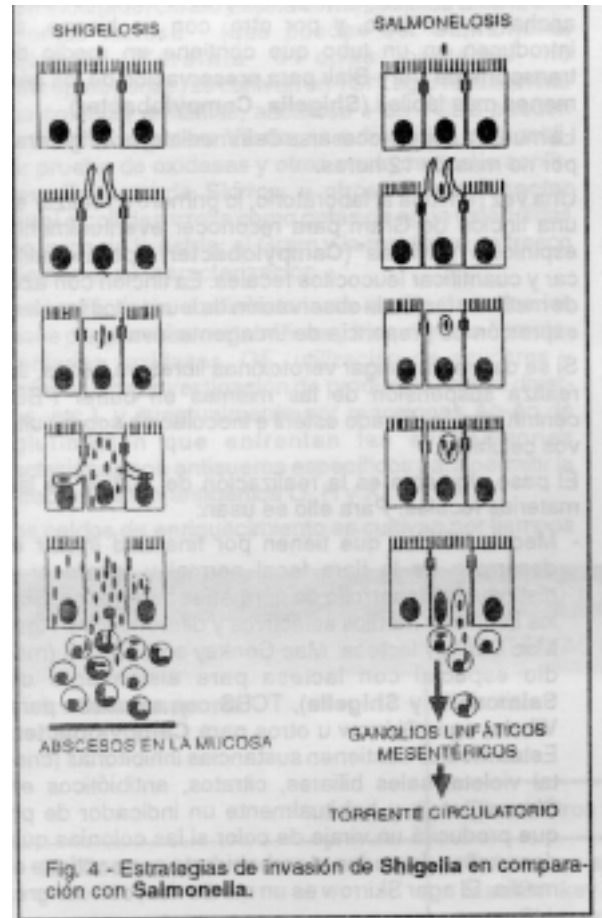


Fig. 4 - Estrategias de invasión de *Shigella* en comparación con *Salmonella*.

VIRUS

Rotavirus. El género *Rotavirus* está incluido en la familia **Reoviridae**. Causan infección intestinal en varias especies (hombre, simios, equinos, porcinos, caninos, bovinos, ovinos y aves). Su existencia e importancia se evidenció en 1973, cuando por primera vez se visualizaron por el microscopio electrónico (M.E) en muestras de tejido duodenal de un niño con diarrea.

Las partículas virales tienen aprox. 70nm de diámetro. Están constituidas por una cápside formada por 2 capas proteicas (externa e interna), y un core de ARN de doble cadena organizado en 11 segmentos. Cada segmento codifica una proteína, con la excepción del gen 11, que codifica para 2. Los genes pueden ser separados según tamaño y configuración por electroforesis en gel de poliacrilamida; esto permite

- clasificar a estos virus en **Rotavirus** grupo A y no grupo A (grupos B-F), sobre la base de la

organización de los segmentos 7, 8 y 9, los cuales migran conjuntamente en el gel cuando corresponden al grupo A. La gran mayoría de los agentes de enfermedad humana y animal pertenecen al grupo A;

- identificar con fines epidemiológicos distintos electroferotipos del grupo A, según patrones de distribución en los geles de los 4 conjuntos reconocibles de segmentos.

Las proteínas virales se clasifican en estructurales (6) y no estructurales (5). La proteína VP6, de cápside interna, es común a todas las cepas del grupo A. Ha sido clasificada en VP6 I y II mediante anticuerpos monoclonales subgrupo-específicos. Las más estudiadas en detalle son las proteínas de la cápside externa: VP4 y VP7, que tienen un importante rol en la replicación viral y en la inducción de inmunidad protectora (anticuerpos neutralizantes). Sus propiedades antigénicas han permitido definir los serotipos virales. Estos se denominan P1 a P4 según el tipo de VP4 presente, y G1 a G9 según su tipo de

proteína VP7.

Varias proteínas no estructurales se encuentran en las células infectadas y no en los viriones maduros. Ejercen su función en la replicación del genoma y en el ensamblaje del virión.

La replicación de **Rotavirus** A se logra en el laboratorio sobre líneas celulares de riñón de mono en presencia de tripsina. En el intestino, la infección natural está restringida a las células maduras de las vellosidades en el intestino delgado. Los viriones se fijan sobre receptores celulares, y la proteína VP4 de la cápside externa es clivada por enzimas proteolíticas como paso previo a la internalización. Producida ésta, se activa la RNA polimerasa-RNA dependiente (transcriptasa, proteína no estructural asociada al virión), se sintetizan los mensajeros y luego las proteínas virales, incluyendo una replicasa con actividad RNA polimerasa que utiliza los mensajeros como molde para la síntesis del genoma segmentado.

Se observa vacuolización de los enterocitos, distensión del retículo endoplásmico y las mitocondrias y borramiento de las microvellosidades. Hay alteración funcional y luego destrucción celular, con migración acelerada de células de recambio inmaduras, interferencia en la absorción de agua, sales y glucosa, balance neto secretorio y niveles reducidos de enzimas digestivas lumbales, todo lo cual se expresa en diarrea.

No se observan cambios inflamatorios ni invasión viral subepitelial.

La producción de antígenos virales tiene su máxima expresión a las 48-72 hs. post-infección, y la morfología celular intestinal retorna a la normalidad en aproximadamente 7 días.

Los **Rotavirus** son localmente, por frecuencia, los segundos agentes causales de diarrea infantil después de **E.coli**. En muchos países desarrollados son su principal agente etiológico.

Los casos predominan en las estaciones más frías en los países industrializados, mientras que en los países subdesarrollados como el nuestro las infecciones ocurren durante todo el año.

La infección afecta en especial a niños de 6 a 24 meses. En los 3 primeros meses habría una protección relativa

conferida por anticuerpos transplacentarios y por la lactancia materna. Los niños experimentan una o más infecciones clínicas o subclínicas por Rotavirus durante los dos primeros años de vida, y a los tres años entre el 80% y el 90% de ellos ya han adquirido anticuerpos contra el virus. Pueden ocurrir reinfecciones asintomáticas.

Las infecciones clínicas se manifiestan por deposiciones líquidas abundantes, vómitos y fiebre en la mitad de los casos. La vía de transmisión más importante es la fecal-oral, pero también se transmiten los virus por medio del agua y los alimentos contaminados. No se ha podido demostrar que se transmita por vía aérea. La presentación en forma de brotes epidémicos está demostrada en instituciones cerradas (guarderías, etc.) y en el ambiente hospitalario.

Por estudios electroforéticos del RNA viral obtenido de las materias fecales se demuestra que pueden coexistir varios electroferotipos dentro de una misma comunidad, aunque la predominancia de uno sobre otro es habitual. En nuestro país se ha demostrado que los electroferotipos cortos y largos varían anualmente en su presentación, a veces cocirculan y otras se suceden, sugiriendo variación genómica frecuente.

Adenovirus entéricos. También llamados Adenovirus atípicos, los serotipos 40 y 41 pueden causar, con menor frecuencia, una enfermedad clínica importante parecida a la gastroenteritis provocada por Rotavirus. En contraste con los Adenovirus convencionales, se requieren técnicas muy especiales para poder cultivarlos.

Virus pequeños. Son virus de 27 a 40 nm, relacionados entre sí, que causan gastroenteritis epidémica familiar, comunitaria, o de fuente alimentaria. Incluye los agentes Norwalk, Montgomery County, Hawai, etc. Son virus que clínicamente causan diarrea o "enfermedad de vómitos en invierno", y que fueron identificados por M.E, ya que no ha sido posible cultivarlos en histocultivos. No han sido investigados en nuestro medio.

Otros virus: *Astrovirus*, *Calicivirus* y *Coronavirus* han sido implicados como causa infrecuente de gastroenteritis.

MÉTODOS DE ESTUDIO. DIAGNOSTICO

El diagnóstico y manejo de las gastroenteritis infantiles

es fundamentalmente clínico. Sólo en ciertas ocasiones se hace necesario saber la etiología:

- con fines de tratamiento antibiótico, como es el caso de una diarrea con sangre, o para descartar el cólera en situación de riesgo específico;
- con fines epidemiológicos, para conocer qué cepas están circulando en un momento dado, la probable fuente de infección y las vías de transmisión, permitiendo así implementar medidas de control que eviten su diseminación.

El estudio etiológico requiere métodos diferentes para la identificación de agentes bacterianos, virales o parasitarios. Nos referiremos a los primeros.

Recolección de la muestra. Las materias fecales se recogen, en el caso de lactantes, con un pañal de nylon. Utilizando una espátula o cucharita de plástico se trasladan **en cantidad suficiente (no menos de 10g)** a un frasco estéril de boca ancha por un lado, y por otro, con un hisopo, se introducen en un tubo que contiene un medio de transporte de Cary-Blair para preservación de los gérmenes más lábiles (*Shigella*, *Campylobacter*).

La muestra debe procesarse de inmediato, o refrigerarse por no más de 12 horas.

Una vez remitida al laboratorio, lo primero a realizar es una tinción de Gram para reconocer eventualmente espirilos o "gaviotas" (*Campylobacter*) y para identificar y cuantificar leucocitos fecales. La tinción con azul de metileno facilita la observación de leucocitos fecales, expresión de presencia de un agente invasor.

Si se desea investigar verotoxinas libres en heces, se realiza suspensión de las mismas en buffer PBS, centrifugación, filtrado estéril e inoculación sobre cultivos celulares.

El paso siguiente es la realización del cultivo de las materias fecales. Para ello se usan:

- Medios sólidos que tienen por finalidad inhibir el desarrollo de la flora fecal normal y favorecer y distinguir el desarrollo de gérmenes patógenos. Son los llamados medios selectivos y diferenciales: Agar Mac Conkey lactosa, Mac Conkey sorbitol, SS (medio especial con lactosa para aislamiento de *Salmonella* y *Shigella*), TCBS con sacarosa para *Vibrio*, agar Skirrow u otros para *Campylobacter*. Estos medios contienen sustancias inhibitorias (cristal violeta, sales biliares, citratos, antibióticos en Skirrow, etc.), y habitualmente un indicador de pH que producirá un viraje de color si las colonias que desarrollan degradan

el carbohidrato que contiene el medio. El agar Skirrow es un medio rico, con sangre.

- Medios líquidos de enriquecimiento. Son caldos que actúan también estimulando el crecimiento de un germen e inhibiendo el de otros que pueden estar presentes en grandes cantidades. Los más utilizados son el caldo tetrionato (especial para *Salmonella*), el caldo selenito (para cultivo de *Salmonella* y algunas cepas de *Shigella*), el agua peptonada alcalina para desarrollo de *V.cholerae*, el PSB (peptona, sorbitol y bilis) para crecimiento en frío de *Y.enterocolitica*. Existen, pero no se usan comúnmente, medios de enriquecimiento para *Campylobacter*, para VTEC y otros. La mayoría de los bacilos Gram (-) enteropatógenos no tiene requerimientos atmosféricos especiales, salvo *Campylobacter* que requiere condiciones microaerófilas que deben proveérsele en jarra apropiada.

En general precisan para crecer temperatura de 37°C. *Campylobacter* crece bien a 42°C, lo que facilita la selección. *Yersinia* debe cultivarse por debajo de 28°C en agar MacConkey u otro, y a 4°C para enriquecimiento en PSB.

El tiempo de incubación de las placas es en general de 24 hs (48 para *Campylobacter*). Las colonias observables en ellas se subcultivan y se estudia su metabolismo para avanzar en su identificación. Las colonias lactosa + (rojas en agar MacConkey) se siembran en agar inclinado, citrato y lisina como posibles *E.coli*. Las colonias lactosa - (que pueden ser *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* u otras bacterias no enteropatógenas) se cultivan en TSI y agar fenilalanina. Las colonias amarillas, sacarosa + en TCBS pueden pertenecer al género *Vibrio*; se subcultivan para realizar prueba de oxidasas y otros ensayos que lo confirmen. En agar de Skirrow u otros, *Campylobacter jejuni* o *coli* desarrolla como gotas de agua extendidas a lo largo de la estría; el Gram y la movilidad en fresco orientan a su caracterización.

La identificación confirmatoria se realiza en todos los casos por pruebas metabólicas y bioquímicas complementarias (oxidasas, OF, utilización de azúcares y aminoácidos, investigación de productos finales diversos, etc.), y eventualmente por reacciones Ag-Ac de aglutinación que enfrentan las suspensiones bacterianas con antisueros específicos para permitir la caracterización antigénica O, H y K.

Los caldos de enriquecimiento se cultivan por tiempos variables según el germen a investigar (1 y 3 días para *Salmonella*; 21 días a 4°C para *Yersinia*, por ej.). Se realizan reaislamientos en placas de agar selectivo y

diferencial, como para la siembra primaria, y las colonias resultantes se estudian de la misma manera. Pueden ser necesarios ensayos especiales, más complicados:

- inoculación de cultivos celulares para investigar citotoxinas o enterotoxinas en caldos de cultivo (filtrado) de ciertos tipos de *E.coli*: ETEC, VTEC;
- inoculación de animales: ratón lactante para investigar ST de *E.coli*; conjuntiva de cobayo o conejo para confirmación de EIEC;
- pruebas de ELISA o aglutinación de látex para investigación de enterotoxinas de *E.coli* o de *V.cholerae*;
- técnicas de PCR o hibridación con sondas de DNA para identificación específica de ácidos nucleicos bacterianos en materias fecales tratadas o en cultivos realizados a partir de las mismas.

El diagnóstico de las gastroenteritis virales se basa en la detección del virus o sus componentes (proteínas o AN) en muestras de materia fecales.

El microscopio electrónico es muy importante para el diagnóstico viral, pero requiere mucho tiempo de observación, es poco sensible a menos que se combine con técnicas inmunológicas (inmunolectromicroscopía, IEM), y no se encuentra disponible en todos los laboratorios por su costo.

Los cultivos celulares constituyen un método laborioso, y la mayor parte de los agentes que producen gastroenteritis crecen mal en los mismos.

El análisis para la detección de antígenos virales es el método diagnóstico más utilizado. Se usan técnicas de ELISA. Son métodos sencillos, rápidos y sensibles. Debido a que no cuentan con una especificidad del 100%, las muestras positivas se deben confirmar mediante otro ELISA denominado de bloqueo. La aglutinación de látex es una técnica de menor sensibilidad y especificidad que el ELISA, pero es un método rápido y práctico. La PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida) estudia el ARN viral en materias fecales tratadas. Permite detectar los genes de *Rotavirus* y distinguir sus características y sus variantes para el estudio de la epidemiología molecular de estas infecciones. Es un método de alta sensibilidad y especificidad, pero no se practica en los laboratorios de análisis clínicos. Lo mismo debemos decir de muchas de las técnicas de estudio copromicrobiológico mencionadas más arriba.

La investigación de un brote de toxoinfección alimentaria requiere la puesta en juego de un conjunto

de procedimientos ordenados:

- Obtención de datos personales, información clínica de cada uno de los afectados, alimentos involucrados, etc. Cuadro 4.
- Envío rápido al laboratorio (Bromatología, IMM) de un mínimo de 50 gr. de los alimentos sospechosos (según tasas de ataque). Refrigerados y en recipientes estériles.
- Envío rápido a laboratorio de Microbiología médica (Ej.: División Laboratorios, MSP., o Instituto de Higiene) de 5 gr. de heces o vómitos de los pacientes. Refrigerados, en frasco estéril, y con medio de transporte si es posible.

Para la orientación del estudio microbiológico hacia los agentes etiológicos probables y la correcta elección de las técnicas de laboratorio, se requiere contar con datos sobre la enfermedad (síntomas, período de incubación, duración, etc.), y sobre los alimentos sospechosos, causas posibles de su contaminación, proporción de personas afectadas que estuvieron expuestas, etc. El cuadro 5 presenta un esquema de la intervención del laboratorio en la investigación de un brote.

Los procedimientos centrales son habitualmente:

- la realización de cultivos a partir de alimentos, heces o vómitos, utilizando medios especiales (de enriquecimiento, selectivos y diferenciales) y frecuentemente técnicas cuantitativas,
- la búsqueda de toxinas en materiales clínicos o en alimentos.

El diagnóstico clínico presuntivo de TIA por *S.aureus* se basa en la identificación de un grupo de casos con instalación brusca de síntomas predominantemente digestivos altos y corto período de incubación, asociados a la ingestión de un alimento sospechoso. El hallazgo de *S.aureus* en gran número en los alimentos, heces o vómitos sirve como indicación de enfermedad estafilocócica. Puede utilizarse medio selectivo y diferencial de Baird Parker, con yema de huevo y telurito de potasio, donde se aprecian colonias negras con borde en tapa de refresco, halo de precipitación por lecitinasa y contorno iridiscente por producción de lipasa.

S.aureus son cocos Gram positivos, catalasa positivos, coagulasa positivos, y productores de termonucleasa detectable sobre agar DNA-azul de toluidina.

CUADRO V

DIAGNOSTICO DE DIARREA INFANTIL

.....		
•MATERIAS FECALES 10g		
.....		
•1. Sin transporte	• Frotis	• Gram
• . . .	• . . .	• Azul de metileno
• . . .	• . . .	• . . .
• . . .	• Filtrado	• VT en cultivos celulares
• . . .	• . . .	• . . .
• . . .	• Elisa u otros métodos para virus	• . . .
• . . .	• . . .	• . . .
•2. Con transporte	• Cultivo con aislamiento	• . . .
• . . .	• Mac Conkey (McS) SS, TCBS	• . . .
• . . .	• agar Skirrow, otros	• . . .
• . . .	• . . .	• . . .
• Con y sin transporte	• Enriquecimiento:	• . . .
• . . .	• Caldos TT, Selenito, APW, PSB u otros	• . . .
.....		
•3. * Identificación de colonias		
• . . .	- Bioquímicas, análisis antigénico	• . . .
• . . .	- Eventualmente, caracterización genética, PCR, sondas.	• . . .
• . . .	• . . .	• . . .
• . . .	* Reaislamiento desde caldos de enriquecimiento	• . . .
.....		
•4. Estudios complementarios		
• enterotoxinas		• . . .
• invasividad		• . . .
• plasmidios		• . . .
.....		

La confirmación se realiza por la detección de enterotoxina en el alimento, o de la producción de enterotoxina por el germen cultivado en abundancia. La investigación de enterotoxinas se realiza por reacción de precipitación Ag-Ac con antitoxinas en lámina, por ELISA sandwich polivalente comercial, o por RPLA (aglutinación pasiva reversa de látex).

La confirmación de la enfermedad por *B.cereus* se realiza mediante la detección de grandes cantidades de microorganismos: $>10^5$ bacterias por gramo, en el alimento, en las heces, o en ambos. Se utiliza agar selectivo y diferencial MYP, con manitol, yema de huevo y polimixina que inhibe bacterias Gram negativas. *B.cereus* es manitol negativo y gran productor de lecitinasa.

La enterotoxina de la forma diarreica es detectable en

alimentos o filtrados de cultivos por RPLA.

Para afirmar que la causa de TIA es *C.perfringens* deben cumplirse uno o más de estos criterios:

- aislamiento del mismo subtipo capsular en el alimento sospechoso y en las heces de la persona enferma, o en la mayoría de las personas enfermas,
- presencia de $>10^6$ gérmenes por gramo de alimento, o un promedio de $>10^6$ esporos por gramo de materia fecal.

Los cultivos se realizan en anaerobiosis sobre agar TSC (triptona sulfito cicloserina) con posterior identificación de las colonias negras sospechosas. Es confirmatoria la detección de α toxina en el alimento, con técnica de hemólisis radial cuantitativa controlada por neutralización con antitoxina.

La enterotoxina de *C.perfringens* es detectable en cultivos o en materias fecales por RPLA.

El diagnóstico de botulismo es clínico, epidemiológico y de laboratorio. El último se hace:

- Evidenciando la toxina en el suero, heces, vómitos o extracto de tejidos si el paciente ha fallecido. Se demuestra su acción patógena por inyección intraperitoneal en el ratón, confirmando por calentamiento la termosensibilidad del producto tóxico, y su neutralización con antitoxina en la prueba del ratón protegido. Las pruebas sirven si el paciente no ha recibido ya antitoxina.
- Demostrando la presencia de toxina en el alimento sospechoso homogenizado y tratado con tripsina, y aislando a partir de él el germen causal. Se destruyen las formas vegetativas con alcohol o calor, se realiza cultivo anaerobio en caldo de enriquecimiento, aislamiento en agar-hígado yema de huevo, y selección en caldo de colonias que deben ser identificadas por su morfología, sus actividades enzimáticas y su producción de toxina.

El diagnóstico de **colitis pseudomembranosa** por *Clostridium difficile* se realiza por endoscopia en pacientes con clínica compatible y antecedentes de tratamiento con antibióticos.

El aislamiento del germen a partir de materias fecales se realiza en agar cicloserina-cefoxitina fructosa yema de huevo, y es positivo en 95% de los enfermos. Las citotoxinas son detectables por inoculación sobre cultivos celulares, o por ELISA.

En pacientes HIV+ pueden ser necesarias la endoscopia e incluso la biopsia para confirmar la infección intestinal con Mycobacterias o CMV cuando la etiología no puede ser determinada por estudios sobre materias fecales.

TRATAMIENTO

Se basa fundamentalmente en medidas de sostén, tanto en lo que se refiere a los bacterias como a los virus, con el fin de evitar o corregir la deshidratación y la desnutrición, que generalmente ocurre en los más pequeños debido a la pérdida de líquidos y también a la mala alimentación a que son sometidos estos niños en el curso de una gastroenteritis. Requiere especial cuidado la realimentación de niños con diarrea persistente y alteraciones importantes en su funcionalidad digestiva.

Debe quedar claro que el tratamiento con ATB está

limitado a casos específicos de diarrea con sangre, donde se acorta el tiempo de excreción del germen y los días de enfermedad, a situaciones de invasión bacteriana sistémica, y también a aquellos casos donde se confirma cólera. Las cepas epidémicas de *V.cholerae* siguen siendo sensibles a la Tetraciclina, que es el antimicrobiano indicado. Como alternativa puede usarse Furazolidona u otros.

Metronidazol o Vancomicina son los antibióticos de elección para la enterocolitis por *C.difficile*. La terapia debe mantenerse 7 a 14 días, pero aún así las recurrencias no son raras.

En el botulismo, el cuidado intenso de sostén y el apoyo respiratorio son primordiales para reducir la letalidad. El tratamiento antitóxico específico del paciente con diagnóstico primario debe ser precoz, para remover de la circulación la toxina no fijada todavía. Se usa antitoxina polivalente de comienzo, y monovalente una vez confirmado y tipificado el agente causal.

PREVENCION

Teniendo en cuenta las altas tasas de morbilidad que presenta la diarrea aguda en la población, los altos costos de atención institucional y la existencia de posibilidades reales de lograr un control efectivo, las gastroenteritis deben ser consideradas prioritarias dentro de los programas de Salud.

Para ello existe una gran cantidad de medidas posibles, desde facilitar el acceso a la asistencia primaria de la Salud y a la Terapia de Rehidratación Oral (SRO), promover la lactancia materna y la preparación higiénica de los alimentos infantiles, enseñar a la comunidad y al personal de salud el cumplimiento estricto de las precauciones universales para el control de la diseminación de infecciones, como el lavado de manos y los métodos barrera (guantes y uso de túnica), y algo fundamental como es mejorar las condiciones sanitarias del medio ambiente (recolección de la basura, saneamiento, suministro de agua potable intradomiciliaria, etc.).

En TIA es muy limitado el conocimiento de la realidad epidemiológica nacional. El informe y estudio sistemático de los brotes es fundamental para conocer los microorganismos prevalentes y los alimentos de mayor riesgo. En tanto estos datos no se manejen, se gastarán a ciegas importantes montos en estudios de inspección y análisis de alimentos posiblemente irrelevantes.

CUADRO VI

TOXIINFECCION ALIMENTARIA ESTUDIO DE UN BROTE

1.- Información médica.

Datos personales.
Fecha, lugar, etc.
Síntomas: - incubación
- descripción
- duración

2.- Información de los alimentos.

Tipo.
Origen.
Preparación.
Conservación.

Tasas de ataque.

Manipuladores.

3.- Información de laboratorio.

Alimento.
Personas afectadas.
Ambiente, utensilios.
Manipuladores.

RESUMEN :

-
- Fecha, lugar, circunstancias. •
- Personas afectadas, clínica. •
- Comida involucrada, causas. •
- Germen responsable. •
-

CUADRO VII

TOXIINFECCION ALIMENTARIA DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

ORIENTACION:

- Clínico - epidemiológica.
- Tipo y aspecto alimento sospechoso.
- Frotis del alimento y material clínico.

1.- Cultivo del microorganismo responsable:

- en materias fecales,
- en vómitos,
- en alimentos: - homogenización previa
- cualitativo o cuantitativo.

2.- Investigación de toxinas:

- en alimentos,
- en materiales clínicos: MF, sangre.

Enterotoxina estafilocócica.

Toxinas botulínicas.

α toxina de **C.perfringens**.

3.- Antígenos virales en heces: ELISA, Látex.

4.- Investigación de gérmenes en ambiente, utensilios. Portadores.

Al hablar de la importancia de esta entidad mencionamos los principales factores que contribuyen a limitar su difusión, y jerarquizamos la necesidad de adecuada cocción de los alimentos, y conservación de los mismos por refrigeración.

Los cuidados de higiene en la manipulación, preparación y envasado de los alimentos, y el alejamiento temporal de manipuladores enfermos tiene más importancia que la búsqueda obsesiva de portadores asintomáticos.

La preservación de intereses económicos no debe interferir con la necesidad de explorar y operar cuidadosamente sobre la realidad para contar con fuentes seguras de alimentos de origen vegetal o animal.

La prevención de la diarrea infantil mediante **inmunización activa** es una meta difícil de lograr, por la multiplicidad de microorganismos involucrados (virales, bacterianos y parasitarios), por la inmadurez

inmunológica de los lactantes que constituyen la población objetivo, y por la necesidad de presentar preparados inmunizantes utilizables por vía oral, que resistan el tránsito gástrico y que despierten una buena respuesta inmune celular y humoral (IgAs) a nivel local, intestinal, en lo posible acompañada de un componente sistémico, como ocurre en la infección natural.

En desarrollo pleno, la población linfocitaria intestinal es la más numerosa del organismo. La pared entérica presenta estructuras de captación y presentación de antígenos y sistemas celulares de respuesta a los mismos que resultan en expresión a nivel local, a nivel sistémico (recordar vacunas antipolio), y en la superficie de otras mucosas por migración de células inmunocompetentes (inmunización por vía entérica contra Adenovirus respiratorios).

En inmunidad antibacteriana importan no sólo las respuestas antitóxicas o antiadhesinas, sino también las dirigidas contra los antígenos de pared y los flagelos, que parecen jugar un papel a tener en cuenta en la

infección natural (ej. por *V.cholerae*), aunque en algunos casos esos componentes de los gérmenes no contribuyan en forma relevante a la patogenicidad microbiana.

Las vacunas v/o con gérmenes inactivados han resultado en general poco inmunogénicas.

Se han ensayado diversas cepas atenuadas de *Shigella*, de EPEC y de *Salmonella*.

Los cultivos aroA de *Salmonella* (ej. *S.enteritidis*) pueden servir, por construcción genética de laboratorio, como transportadores y presentadores de antígenos correspondientes a otros patógenos. Se están ensayando en este momento para la prevención de la infección en aves.

Para la prevención del cólera, la vacuna tradicional de gérmenes muertos no es efectiva, y no se recomienda su uso. Están en uso a nivel de prueba de campo 2 tipos distintos de vacunas:

- vacuna inactivada que contiene bacterias "completas" y componente B de la toxina agregado como sustancia inmunizante y como adyuvante. Es un producto seguro, pero la eficacia es limitada. Este preparado parece tener cierto efecto protector contra las infecciones por ETEC,

- vacuna viva atenuada, preparada por modificación genética, que contiene la mayor parte de los antígenos bacterianos, incluyendo la porción B de su toxina CT, pero no su sector A, activo. Es crítico el cuidado de la inocuidad de estas cepas.

Ambos tipos candidato de vacuna anticolérica son inefectivos para las infecciones por *V.cholerae* O:139. Se abre todo un nuevo período de investigación en el tema.

El toxoide botulínico es medicación preventiva obligatoria para trabajadores de laboratorio que manejen este germen o sus toxinas, en estudios básicos o de toxiinfecciones alimentarias.

Para *Rotavirus* se han hecho ensayos con vacunas atenuadas para el hombre, de origen animal: bovino y simiano. Han demostrado ser seguras e inmunogénicas, pero de eficacia limitada. Algunas atenúan los síntomas, más que disminuir las tasas de infección. Están en estudio cepas "neonatales" atenuadas, procedentes de recién nacidos infectados pero no enfermos. La protección conferida por una cepa atenuada es alta para la infección homotípica, pero la inmunidad heterotípica es menor; esto ha llevado a ensayar la construcción de **vacunas polivalentes por reordenación genética de virus animales o humanos**, de gérmenes atenuados transportadores de antígenos de Rotavirus, y de vacunas no vivas, preparadas con

proteínas virales de distintos tipos, para uso parenteral u oral. El desarrollo futuro requiere tener en cuenta no sólo el contenido antigénico viral, sino su presentación, dosis, vías y formas de modulación de los distintos tipos de respuesta inmune.

En lo que respecta en general a las vacunas contra la gastroenteritis, existe controversia a nivel de Salud Pública en el mundo, ya que el ensayo y uso de preparados no bien eficaces puede crear un falso sentido de seguridad en la comunidad, y desviar recursos de las medidas prioritarias de mejora de las condiciones higiénicas, ambientales y sociales.

Ejemplo: la provisión de agua potable abundante y de saneamiento son las medidas de Salud Pública más efectivas para controlar la difusión del cólera. La inversión de tiempo y dinero en la búsqueda de vacunas no debe interferir con el desarrollo prioritario de los recursos mencionados.

PRACTICO DE GASTROENTERITIS

CASO 1- Lactante de 7 meses, sexo masculino, sin antecedentes patológicos personales ni familiares a destaar. Procedente de un medio socio-económico deficitario. Mal alimentado. Comienza hace 48 hs con deposiciones líquidas, 10 a 12 por día, agregando en la evolución deposiciones con sangre. Consulta en una policlínica periférica, donde le indican agua de arroz y té. Agrega a las 24 hs vómitos, rechazo del alimento y depresión neuro-psíquica. Al ingreso en la emergencia instala movimientos tónico-clónicos de los 4 miembros, con revulsión ocular, que dura 5 minutos.

Al examen físico se comprueban signos de deshidratación por lo cual se comienza el tratamiento de reposición.

PRACTICO. Se observarán placas de agar Mac conkey y de SS sembradas con heces del paciente, en las cuales se observan abundantes colonias lactosa (-). Se realizará a partir de ellas siembra con punta en medios de TSI, FA y otros.

DISCUSION. Se hablará de cuándo está indicado o no la realización de un coprocultivo.

Toma de la muestra y transporte. Métodos de estudio. Medios de cultivo utilizados. Interpretación de resultados.

PREGUNTAS.

¿Cuáles pueden ser los gérmenes involucrados en este caso?

¿Qué factores de virulencia están involucrados en la infección?

¿Cuál sería la mejor forma de terapia en esta situación?
¿Fue correcta la que se realizó?
¿Usaría antibióticos en este caso?
¿Cuales son los factores que tendría en cuenta para la prevención de la diarrea infecciosa?

CASO 2.- Lactante de 5 meses, sexo femenino, procedente de un medio socio-económico deficitario, alimentado artificialmente. Cursa desde hace unos días un cuadro respiratorio caracterizado por rinitis serosa y tos seca. Comienza hace 24hs con rechazo del alimento, fiebre y vómitos abundantes. Agrega en las últimas horas deposiciones líquidas (5-6 en 12hs). Debido a que las deposiciones aumentan en cantidad y frecuencia la madre consulta, constatándose en la puerta de emergencia signos de deshidratación.

PRACTICO. En las placas de agar Mac Conkey y SS no se observa crecimiento alguno.

PREGUNTAS: ¿Por qué cree usted que no hubo crecimiento en las placas?

¿Estaba justificada acá la realización de un coprocultivo?

¿Cuáles pueden ser los gérmenes involucrados en este caso?

Si a usted le interesara epidemiológicamente pedir un diagnóstico, ¿qué otros métodos de estudio emplearía para buscar el germen responsable?

CASO 3- Paciente de 9 meses, sexo femenino, procedente del interior, de medio socio-económico aceptable. Bien alimentado. Presenta desde hace 15 días fiebre, dificultad para alimentarse y rinitis serosa. Hace 2 días comienza con deposiciones líquidas, 5 a 6 por día, sin elementos anormales. Consulta la madre, y se le indica sales de rehidratación oral SRO luego de cada deposición. Continúa igual, agregando hace 24 horas deposiciones con estrías de sangre. Antes de la consulta, sufre un episodio convulsivo de 3-4 minutos de duración. La madre relata que desde hace varias horas no orina, y que lo nota muy pálido.

Al examen físico: deprimido, febril. Palidez cutáneo-mucosa. Sin signos de deshidratación. Pañal sin deposiciones ni orina. Con el diagnóstico presuntivo de Síndrome Hemolítico Urémico se interna en Cuidados Intensivos, donde se recogen materias que se envían al Departamento de Bacteriología y Virología del Instituto de Higiene.

PRACTICO: Se observan placas sembradas de agar Mac Conkey y SS. De colonias lactosa+ se inocularán tubos de Agar Infusión, citrato y lisina. Se mostrará verotoxicidad de las materias fecales. Fotos de PCR y Southern Blot.

DISCUSION: Se hablará de las posibles etiologías del SHU, su patogenia, epidemiología, y pasos a seguir en el diagnóstico.

CASO 4- Paciente de 30 años con antecedentes patológicos de gastritis. Regresa de un viaje por Centro América. Comienza a las 48 hs con deposiciones líquidas abundantes, acuosas, de color amarillento parduzco. Concomitantemente, decaimiento y dolor abdominal. Todo cursa en apirexia. Agrega vómitos y continúa con deposiciones que cada vez son más frecuentes y más abundantes. Se queja de calambres. Es trasladado a la emergencia donde se constatan signos de deshidratación y acidosis metabólica. Se comienza el tratamiento en base a fluidos i/v y por v/o con SRO, requiriéndose en primera instancia 2 litros de suero y electrolitos. Se recogen materias para un coprocultivo. Se trata además con antibióticos, y evoluciona satisfactoriamente. En el cultivo crece **V.cholerae**.

PRACTICO. Observación de colonias de **Vibrio** en agar TCBS (medio selectivo, y diferencial que contiene tiosulfato, citrato, sales biliares y sacarosa). Prueba de la Oxidasa. Sensibilidad al compuesto O/129 en disco. Comportamiento en medio de TSI (sacarosa+).

PREGUNTAS. ¿Es importante aquí la realización de un coprocultivo?, ¿por qué?.

¿Todas las cepas de V.cholerae son capaces de causar cólera?

¿Cómo se transmite? y ¿cuáles son las medidas que usted y la comunidad deben tomar para prevenirlo?.

CASO 5- A.S, 25 años, sexo femenino, residente de Montevideo, regresa de un viaje con sus compañeros de estudio a una ciudad del Interior. A las 48hs de haber ingerido milanesas con ensalada rusa en un restaurante de la zona, comienza con sensación nauseosa y vómitos, agregando a las pocas horas cólicos abdominales y deposiciones líquidas abundantes al igual que la mayoría de sus compañeros.

Al examen físico: paciente intensamente dolorida, con fiebre de 38° axilar. Abdomen: Dolor a la palpación en zona periumbilical y en FID. No presenta defensa ni contractura.

Se realizó tratamiento en base a fluidos i/v y electrolitos. El coprocultivo muestra a las 24 hs el desarrollo de bacterias lactosa (-) H₂S + que estudiadas revelan ser **Salmonella enteritidis**.

PRACTICO. Observaremos en medios de MacConkey y en SS las colonias sospechosas. Se realizará la siembra de esas colonias en TSI y fenilalanina, como paso inicial de identificación.

PREGUNTAS: ¿Cuál cree usted que fue la causa de la infección por Salmonella?

¿Cuál es el mecanismo patogénico del germen como productor de gastroenteritis?

¿Conoce otros métodos de estudio, que puedan complementar los ya vistos?

¿Qué medidas pueden tomarse para evitar este tipo de infecciones?