

Microbiología y Parasitología Médicas

Tomo I

A detailed illustration of a microorganism, likely a bacterium, shown in cross-section. It features a central body with several internal organelles, including what appear to be nuclei or nucleoli, and a complex network of flagella extending from the periphery. The organism is set against a background of a large, faint circular structure, possibly a cell wall or a larger organism's structure.

LLOP • VALDÉS-DAPENA • ZUAZO

Microbiología y Parasitología Médicas

Tomo I

Alina Llop Hernández
Ma. Margarita Valdés-Dapena Vivanco
Jorge Luis Zuazo Silva

Ciudad de La Habana,
2001

Datos CIP - Editorial de Ciencias Médicas

Llop Hernández Alina

Microbiología, Parasitología Médicas/ Alina Llop Hernández ...[y otros]
La Habana: Editorial Ciencias Médicas, 2001

3t., XXVI, 550 p.: il

Incluye Bibliografía e Índices

ISBN 959-7132-52-4

ISBN 959-7132-53-2

1. MICROBIOLOGIA/educación 2. PARASITOLOGIA/educación

3. ENFERMEDADES TRANSMISIBLES I. Llop Hernández, Alina II. Valdés-Dapena Vivanco,
Ma. Margarita II. Zuazo Silva, Jorge L.

QW

18

Edición: Lic. Niurka Casanovas Herrero

Diseño: DI José Manuel Oubiña González

Emplante: Ana Ibis Gómez, Lisett Torres y Xiomara Segura

Realización: Manuel Izquierdo Castañeda

© Alina Llop Hernández,
Ma. Margarita Valdés-Dapena Vivanco,
Jorge L. Zuazo Silva y otros, 2001.

© Sobre la presente edición:
Editorial Ciencias Médicas, 2001

Editorial Ciencias Médicas

Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas

Calle E No. 452 e/ 19 y 21, El Vedado, Ciudad de La Habana,
10400, Cuba.

Correo electrónico: ecimed@infomed.sld.cu

Fax: 333063

Télex: 0511 202

Teléfonos: 32-5338, 32-4519 y 32-4579

Autores principales

Llop Hernández, Alina M.D.

Especialista 2do. Grado en Microbiología y Administración de Salud.

Profesora Titular. Consultante.

Investigadora Titular. Académica de Mérito.

Directora del Laboratorio Nacional de Referencia y vicedirectora del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”.

Valdés-Dapena Vivanco, Ma. Margarita M.D. Ph.D.

Especialista 2do. Grado en Microbiología.

Profesora Titular. Consultante.

Jefe de Servicio de Microbiología del Hospital Pediátrico Docente “Juan M. Márquez”.

Zuazo Silva, Jorge L. M.D.

Especialista 2do. Grado en Microbiología.

Profesor Auxiliar. Investigador Titular.

Consultante del Departamento de Microbiología del Hospital Pediátrico Docente de Centro Habana.

Autores

Almanza Martínez, Caridad M.D.
Especialista 2do. Grado en Microbiología.
Profesora Auxiliar.

Cisneros Despaigne, Eugenio M.D.
Especialista 2do. Grado en Microbiología.
Instructor. Investigador Agregado.

Delgado García, Gregorio M.D.
Especialista 2do. Grado en Microbiología.
Asistente. Historiador Médico del Ministerio de Salud Pública.

Delgado Rodríguez, Gregorio
Aspirante a investigador.

Fernández Andreu, Carlos M. M.Sc.
Asistente. Investigador Auxiliar.

Ginebra González, Olga A. M.D.
Especialista 1er. Grado en Microbiología.
Asistente.

Ilnait Zaragozaí Ma. Teresa M.D. M.Sc.
Especialista 1er. Grado en Microbiología.
Investigadora Agregada.

Junco Díaz, Raquel de los A. M.D. M.Sc.
Especialista 2do. Grado en Microbiología.
Profesora Auxiliar. Investigadora Auxiliar.

Leiva Sánchez, Teresita A. M.D.
Especialista 2do. Grado en Microbiología.
Profesora Auxiliar.

Macola Olano, Silvia M.D.
Especialista 2do. Grado en Microbiología.
Profesora Auxiliar.

Martínez Izquierdo, Alicia Ma. M.D.
Especialista 1er. Grado en Microbiología.
Instructora.

Martínez Machín, Gerardo M.D.
Especialista 1er. Grado en Microbiología.
Instructor. Investigador Agregado.

Martínez Motas, Isabel M.D.
Especialista 2do. Grado en Microbiología.

Montoro Cardoso, Ernesto M.D. M.Sc.
Especialista 2do. Grado en Microbiología.
Investigador Auxiliar.

Moya Duque, Sonia M.D.
Especialista 2do. Grado en Microbiología.
Asistente.

Ochoa Azze, Rolando F. M.D.
Especialista 2do. Grado en Inmunología.
Instructor.

Pérez Amarillo, Julián I. M.D.
Especialista 1er. Grado en Microbiología.
Instructor.

Pérez Monrás, Miriam F. M.D.
Especialista 2do. Grado en Microbiología.
Instructora. Investigadora Auxiliar.

Perurena Lancha, Mayda R. Ms.C.
Investigadora Agregada.

Quiñones Pérez, Dianelys M.D.
Especialista 1er. Grado en Microbiología.

Rodríguez González, Daisy P. M.D.
Especialista 2do. Grado en Microbiología.
Asistente.

Rodríguez Pérez, Carlos M. M.D.
Especialista 1er. Grado en Microbiología.
Asistente.

Suárez Moreno, Odelaisy M.Sc.
Instructora. Investigadora Auxiliar.

Svarch Scharager, Natalio M.D. Dr.C.
Especialista 2do. Grado en Microbiología.
Profesor Titular. Consultante.

Valdivia Álvarez, José A. M.D. Dr. C.
Especialista 2do. Grado en Microbiología.
Investigador Titular.

Prólogo

Las enfermedades transmisibles constituyen hoy las principales causas de muerte entre niños y adultos jóvenes, particularmente en el Tercer Mundo. Ellas causan más de 13 000 000 de muertes, y más de la mitad de estas ocurre en los países subdesarrollados.

Sólo en la próxima hora, 1 500 personas morirán de alguna enfermedad transmisibile; la mitad de ellos, niños menores de 5 años.

Según la OMS, las enfermedades transmisibles representan 45 % del total de muertes en los países pobres de Asia y África, 63 % de las muertes de los niños de 0 a 4 años en el mundo y 48 % de las muertes catalogadas como prematuras.

Las principales enfermedades transmisibles que producen esta carga de dolor y muerte son: las infecciones respiratorias agudas, el SIDA, las enfermedades diarreicas agudas, la tuberculosis, la malaria y el sarampión.

Este sombrío panorama que afecta al mundo, donde la mayoría de las enfermedades infecciosas pueden ser prevenidas con estrategias conocidas, es, sin embargo, el que se nos presenta al iniciar la humanidad el Tercer Milenio.

La pobreza, el hambre, la miseria y el desamparo social determinan inequidades que caracterizan al mundo de hoy, y afectan uno de los principales derechos del hombre: el derecho a la salud.

Según la OMS, “los países más pobres están pagando un alto precio por la complacencia y negligencia del mundo desarrollado”. En el mundo actual, 20 % de la población mundial vive en absoluta pobreza (menos de 1 USD por día) y la mitad de la población mundial subsiste con 2 USD por día.

En Cuba, país pobre, el cual sufre el más inhumano bloqueo que se ha aplicado a un pueblo, la situación de las enfermedades transmisibles es completamente distinta y esto se debe a la prioridad que tiene la salud para nuestro Partido y Gobierno, así como para nuestro sistema socialista.

Nuestros programas de control se caracterizan por:

Absoluta equidad para toda la población.

Protección a toda la población urbana y rural.

Fuerte desarrollo de la atención primaria.

Protección mediante vacunación contra trece enfermedades transmisibles.

Poseer un sistema de vigilancia epidemiológica de enfermedades transmisibles con base de laboratorio muy bien estructurado.

Por estas razones, el Sistema de Salud de Cuba ocupa el lugar 39 en su evaluación global, entre 190 países, según aparece en El Reporte Mundial de la Salud de la OMS del año 2000.

Los indicadores de Salud de Cuba se corresponden con los de un país desarrollado, donde las llamadas enfermedades tropicales no existen y la mayoría de las transmisibles no son problemas de salud. Nuestro reto actual lo constituyen las infecciones respiratorias agudas y mantener a raya la resistencia de los microorganismos a los antibióticos.

A pesar de este panorama favorable, la microbiología y la parasitología médicas tienen que continuar su desarrollo acelerado, y es aquí donde el magnífico libro que se presenta debe desempeñar un papel protagónico.

Con anterioridad sólo existía la formidable obra de *Parasitología* escrita por los profesores Kourí, Basnuevo y Sotolongo. Hoy, esta obra comprende todas las ramas de la microbiología y la parasitología médicas, incluyendo un enfoque clínico-epidemiológico.

Los Planes Integrales de Salud que Cuba desarrolla en países hermanos del Tercer Mundo y la existencia de la Escuela de Medicina Latinoamericana, hacen cobrar una mayor dimensión y vigencia a este libro, ya que, como se mencionó antes, son precisamente las enfermedades transmisibles las que están cobrando hoy un alto tributo en vidas a la humanidad, y sólo mediante un buen conocimiento de estas especialidades, tendremos mejores armas para enfrentarlas en los países endémicos y evitar su introducción en Cuba, o controlarlas en caso de que aparezcan.

Dr.C. Prof. Gustavo Kourí Flores
Director Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", Cuba
Presidente de la Sociedad Cubana de Microbiología

Prefacio

La posibilidad de contar con un texto único, actualizado y cubano de *Microbiología y parasitología médicas*, que cumpla con los objetivos de servir de texto al pregrado de las carreras relacionadas con la medicina, de apoyo al posgrado y como libro de consulta para el personal que trabaja en la Salud, ha sido una necesidad sentida desde hace muchos años, y es hoy una realidad.

Se presenta por primera vez en Cuba, una obra de *Microbiología y parasitología médicas* con la característica de haber sido escrita por un colectivo de 80 autores, de diferentes perfiles dentro de la especialidad, que ha reunido a tres generaciones de profesores dedicados a la docencia, asistencia e investigación y –junto a experimentados trabajadores de la salud pública cubana, ha brindado espacio a brillantes jóvenes los cuales aseguran que esta primera edición tendrá una continuidad actualizada– que recoja, además, la riqueza acumulada por el Sistema de Salud de Cuba.

Tratar de integrar una obra en la que concurren tantos autores, no ha resultado fácil sólo por ese simple hecho. Pero... además, cuando han coincidido diferentes objetivos, aún resulta más compleja. Unir voluntades, esfuerzos y escribir con recursos limitados ha sido una pujante labor, como era de esperar.

Esta obra modesta, pero llena de amor, servirá para dar a conocer, además de todo lo de valor científico que ella en sí misma encierra, cómo una especialidad médica que sirve de instrumento imprescindible en el diagnóstico, la vigilancia y el control de las enfermedades infecciosas, puede lograr desarrollo, aun tratándose de un país pobre, porque... la inequidad en salud no existe donde la salud pública es un derecho de todos, donde ha habido éxitos innegables y donde existe la voluntad de que así sea. Los logros de la medicina cubana hoy se extienden por otras tierras, con el calor humano que la caracteriza, la modestia y la ética en la que han sido educados los médicos de nuestra sociedad. A esos médicos que hoy prestan el concurso de sus modestos esfuerzos lejos de Cuba, va dedicada esta obra.

Estamos seguros de que nuestros maestros y nuestros alumnos sabrán apreciar el esfuerzo realizado.

Prof. Alina Llop Hernández

Prof. Ma. Margarita Valdés-Dapena Vivanco

Prof. Jorge L. Zuazo Silva

Índice General

TOMO I

Sección I. Generalidades

- Capítulo 1. Breve historia de la microbiología y la parasitología médicas
- Capítulo 2. Nomenclatura y clasificación de los microorganismos
- Capítulo 3. Principios básicos de epidemiología en las enfermedades transmisibles
- Capítulo 4. Microscopia y coloraciones
- Capítulo 5. Características de las células procarióticas y eucarióticas
- Capítulo 6. Metabolismo microbiano
- Capítulo 7. Cultivo y crecimiento de los microorganismos
- Capítulo 8. Genética microbiana
- Capítulo 9. Efecto de los agentes físicos y químicos sobre los microorganismos
- Capítulo 10. Quimioterapia antimicrobiana
- Capítulo 11. La epidemia silente del siglo XXI. Resistencia antimicrobiana

Sección II. Interacción hospedero-parásito

- Capítulo 12. Fundamentos de la ecología
- Capítulo 13. Flora indígena del cuerpo humano
- Capítulo 14. Propiedades de los microorganismos para producir enfermedad
- Capítulo 15. Atributos del hospedero para resistir

Sección III. Bacterias

- Capítulo 16. Taxonomía, clasificación y nomenclatura de las bacterias
- Capítulo 17. Mecanismos de defensa frente a las infecciones bacterianas
- Capítulo 18. Estafilococos
- Capítulo 19. Estreptococos

- Capítulo 20. Enterococos
- Capítulo 21. Bacilos grampositivos no esporulados: *Corynebacterium*,
Propionibacterium, *Listeria* y *Erysipelothrix*
- Capítulo 22. Bacilos grampositivos esporulados aerobios: *Bacillus*
- Capítulo 23. Clostridios
- Capítulo 24. Neisserias y *Moraxella catarrhalis*
- Capítulo 25. Bacilos y cocos gramnegativos anaerobios
- Capítulo 26. Enterobacterias
- Capítulo 27. *Haemophilus* y *Gardnerella vaginalis*
- Capítulo 28. Cocobacilos gramnegativos pequeños: *Brucella*, *Bordetella*,
Francisella y *Pasteurella*
- Capítulo 29. *Pseudomonas*
- Capítulo 30. *Acinetobacter* y otros bacilos gramnegativos no
fermentadores
- Capítulo 31. Legionelas
- Capítulo 32. Vibrios
- Capítulo 33. *Aeromonas* y *Plesiomonas*
- Capítulo 34. *Campylobacter*, *Helicobacter* y microorganismos afines
- Capítulo 35. Actinomicetos
- Capítulo 36. Micobacterias
- Capítulo 37. Microorganismos espirilares
- Capítulo 38. Micoplasmas y *Ureaplasma*
- Capítulo 39. Clamidias
- Capítulo 40. Rickettsias

Sección IV. Hongos

- Capítulo 41. Generalidades de micología
- Capítulo 42. Inmunología de las micosis
- Capítulo 43. *Malassezia furfur*, *Piedraia hortae*, *Trichosporon beigeli*
y *Phaeoannellomyces werneckii*
- Capítulo 44. Dermatofitos
- Capítulo 45. Hongos causantes de micetomas
- Capítulo 46. *Sporothrix schenckii*
- Capítulo 47. Hongos causantes de cromomicosis
- Capítulo 48. *Candida*
- Capítulo 49. *Histoplasma capsulatum*
- Capítulo 50. *Cryptococcus neoformans*
- Capítulo 51. *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis*,
Blastomyces dermatitidis
- Capítulo 52. *Aspergillus* y hongos causantes de mucormicosis
- Capítulo 53. Micosis oportunistas en pacientes con SIDA

TOMO II

Sección V. Virus

- Capítulo 54. Propiedades generales de los virus
- Capítulo 55. Patogenia y control de las enfermedades virales
- Capítulo 56. Inmunología de las virosis humanas
- Capítulo 57. Diagnóstico de las enfermedades virales
- Capítulo 58. Parvovirus
- Capítulo 59. Adenovirus
- Capítulo 60. Papovavirus
- Capítulo 61. Herpesvirus
- Capítulo 62. Poxvirus
- Capítulo 63. Hepatitis
- Capítulo 64. Picornavirus
- Capítulo 65. Reovirus y rotavirus
- Capítulo 66. Alfavirus
- Capítulo 67. Ortomixovirus
- Capítulo 68. Paramixovirus y rubéola
- Capítulo 69. Rabdovirus
- Capítulo 70. Retrovirus
- Capítulo 71. Arenavirus
- Capítulo 72. Filovirus
- Capítulo 73. Flavivirus
- Capítulo 74. Coronavirus
- Capítulo 75. Bunyavirus

TOMO III

Sección VI. Parásitos

- Capítulo 76. Generalidades de parasitología
- Capítulo 77. Inmunología de las parasitosis humanas
- Capítulo 78. *Giardia lamblia*
- Capítulo 79. *Trichomonas*
- Capítulo 80. *Chilomastix*
- Capítulo 81. *Trypanosoma* spp.
- Capítulo 82. *Leishmania*
- Capítulo 83. *Balantidium coli*
- Capítulo 84. Amebas
- Capítulo 85. Amebas de vida libre
- Capítulo 86. *Blastocystis*
- Capítulo 87. *Toxoplasma gondii*
- Capítulo 88. *Plasmodium*
- Capítulo 89. *Babesia* spp.
- Capítulo 90. *Pneumocystis carinii*

- Capítulo 91. *Cryptosporidium*
- Capítulo 92. *Isospora*
- Capítulo 93. *Cyclospora* y *Sarcocystis*
- Capítulo 94. *Microsporidia*
- Capítulo 95. *Ascaris*
- Capítulo 96. *Trichuris*
- Capítulo 97. *Ancylostoma* y *Necator*
- Capítulo 98. *Strongyloides*
- Capítulo 99. *Trichostrongylus* spp.
- Capítulo 100. *Enterobius*
- Capítulo 101. *Filarias*
- Capítulo 102. *Onchocerca volvulus*
- Capítulo 103. *Dirofilaria*
- Capítulo 104. Eosinofilia pulmonar tropical
- Capítulo 105. *Dracunculus*
- Capítulo 106. *Toxocara* spp.
- Capítulo 107. *Trichinella*
- Capítulo 108. *Angiostrongylus*
- Capítulo 109. *Capillaria*
- Capítulo 110. *Anisakis*
- Capítulo 111. *Gnathostoma*
- Capítulo 112. *Taenia saginata* y *Taenia solium*
- Capítulo 113. Cisticerco
- Capítulo 114. Coenurosis
- Capítulo 115. *Echinococcus* spp.
- Capítulo 116. *Esparganum*
- Capítulo 117. *Diphyllobothrium*
- Capítulo 118. *Hymenolepis*
- Capítulo 119. *Inermicapsifer madagascariensis*
- Capítulo 120. *Raillietina* spp.
- Capítulo 121. *Fasciola*
- Capítulo 122. Trematodiosis intestinal
- Capítulo 123. *Clonorchis*
- Capítulo 124. *Opistorchis* spp.
- Capítulo 125. *Paragonimus*
- Capítulo 126. *Schistosoma*

Sección VII. Vectores

- Capítulo 127. Vectores de importancia médica
- Capítulo 128. Culícidos
- Capítulo 129. Simúlidos
- Capítulo 130. Flebótomos
- Capítulo 131. Ceratopogónidos
- Capítulo 132. Tábanos
- Capítulo 133. Mosca doméstica y mosca de los establos
- Capítulo 134. Mosca tsetsé

- Capítulo 135. Moscas y miosis
- Capítulo 136. Pulgas
- Capítulo 137. Pediculosis
- Capítulo 138. Chinchas de cama
- Capítulo 139. Triatomas
- Capítulo 140. Cucarachas
- Capítulo 141. Ácaros
- Capítulo 142. Artrópodos venenosos
- Capítulo 143. Reptiles venenosos
- Capítulo 144. Roedores plagas
- Capítulo 145. Malacología médica

Sección VIII. Laboratorio de Microbiología y enfermedades infecciosas

- Capítulo 146. El recurso microbiológico en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas
- Capítulo 147. La muestra para estudio microbiano
- Capítulo 148. Bioseguridad
- Capítulo 149. Garantía de la calidad en microbiología
- Capítulo 150. Inmunoserología en el Laboratorio de Microbiología Clínica
- Capítulo 151. Prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos
- Capítulo 152. Aplicaciones de la biología molecular a la microbiología médica
- Capítulo 153. El Laboratorio de Microbiología en las infecciones intrahospitalarias
- Capítulo 154. Microbiología ambiental
- Capítulo 155. El Laboratorio de Microbiología y las enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes

Índice

Sección I. Generalidades

- Capítulo 1. Breve historia de la microbiología y la parasitología médicas 3**
GREGORIO DELGADO GARCÍA Y GREGORIO DELGADO RODRÍGUEZ
Microbiología y parasitología médicas 3
Desarrollo histórico de la microbiología y la parasitología médicas 3
La microbiología y la parasitología médicas en Cuba 6
Resumen 7
Bibliografía 7
- Capítulo 2. Nomenclatura y clasificación de los microorganismos 9**
GREGORIO DELGADO GARCÍA Y GREGORIO DELGADO RODRÍGUEZ
Resumen 11
Bibliografía 11
- Capítulo 3. Principios básicos de epidemiología en las enfermedades transmisibles 13**
EUGENIO CISNEROS DESPAIGNE
Introducción 13
Enfermedad transmisible 13
Enfermedades infecciosas emergentes 14
Enfermedades infecciosas reemergentes 14
Mecanismo o vía de transmisión 14
Concepto de infección 16
Contaminación 16
Enfermedad 16
Incidencia de una enfermedad 16
Desarrollo del proceso infeccioso en el individuo 17
Cadena epidemiológica 17
Propiedades relacionadas con la supervivencia en el medio 18
Métodos epidemiológicos 18
Resumen 18
Bibliografía 18
- Capítulo 4. Microscopia y coloraciones 19**
JORGE L. ZUAZO SILVA
Microscopia 19
Microscopios 20
Coloraciones 23
Resumen 28
Bibliografía 28

Capítulo 5. Características de las células procarióticas y eucarióticas 29

JORGE L. ZUAZO SILVA

Introducción 29
Célula procariótica 29
Célula eucariótica 34
Resumen 36
Bibliografía 36

Capítulo 6. Metabolismo microbiano 37

RAQUEL DE LOS A. JUNCO DÍAZ Y CARLOS M. RODRÍGUEZ PÉREZ

Introducción 37
Metabolismo degradativo 38
Vías biosintéticas 41
Regulación 43
Resumen 43
Bibliografía 44

Capítulo 7. Cultivo y crecimiento de los microorganismos 45

RAQUEL DE LOS A. JUNCO DÍAZ Y CARLOS M. RODRÍGUEZ PÉREZ

Introducción 45
Requerimientos para el crecimiento 45
Fuentes de energía metabólica 46
Factores nutricionales 46
Factores ambientales que afectan el crecimiento 47
Métodos de cultivo 49
Crecimiento microbiano 50
Resumen 53
Bibliografía 54

Capítulo 8. Genética microbiana 55

RAQUEL DE LOS A. JUNCO DÍAZ Y CARLOS M. RODRÍGUEZ PÉREZ

Introducción 55
Organización del genoma 56
Replicación del ADN 58
Expresión del gen 62
Regulación de la expresión del gen 62
Mutación y selección 63
Recombinación de las bacterias 65
Fundamento de la ingeniería genética 71
Resumen 72
Bibliografía 72

Capítulo 9. Efecto de los agentes físicos y químicos sobre los microorganismos 73

DAISY P. RODRÍGUEZ GONZÁLEZ

Introducción 73
Esterilización y desinfección 74
Resumen 78
Bibliografía 79

Capítulo 10. Quimioterapia antimicrobiana 81

ALINA LLOP HERNÁNDEZ

Introducción 81
Mecanismos de acción de los fármacos antimicrobianos 82
Origen de la resistencia de las bacterias a los antibióticos 85
Estudios experimentales sobre nuevos antimicrobianos 86
Agentes antibacterianos recientemente aprobados. Nuevas aplicaciones y nuevas drogas 87
Medición de la actividad antimicrobiana 87
Relación medicamento-parásito 88
Relación hospedero-parásito 89
Efectos adversos no dependientes de la resistencia causados por los antimicrobianos 90
Resumen 90
Bibliografía 90

Capítulo 11. La epidemia silenciosa del siglo XXI. Resistencia antimicrobiana 91

ALINA LLOP HERNÁNDEZ

Resistencia antimicrobiana 91

Consecuencias sociales del mal uso individual 92

¿Cuál fue la primera evidencia de la resistencia bacteriana? 93

¿Por qué se sucede el cambio de sensible a resistente en las bacterias? 94

Pero...¿cómo el individuo obtiene los antibióticos? 94

Resistencia 95

¿Qué papel desempeña la industria productora de antibióticos en el fenómeno de la resistencia de las bacterias a los antimicrobianos? 96

¿Y qué pasa con los animales y las plantas? 96

Globalización y resistencia 97

Algunos ejemplos de resistencia bacteriana a los antibióticos en Cuba 98

Resumen 98

Bibliografía 99

Sección II. Interacción hospedero-parásito

Capítulo 12. Fundamentos de la ecología 103

NATALIO N. SVARCH SCHARAGER

Introducción 103

Relaciones entre los seres vivos 104

Organismos saprófitos 105

Resumen 105

Bibliografía 105

Capítulo 13. Flora indígena del cuerpo humano 107

DAISY P. RODRÍGUEZ GONZÁLEZ

Introducción 107

Flora indígena de las diferentes localizaciones 108

Resumen 110

Bibliografía 111

Capítulo 14. Propiedades de los microorganismos para producir enfermedad 113

RAQUEL DE LOS A. JUNCO DÍAZ

Introducción 113

Establecimiento de la enfermedad infecciosa 114

Mecanismos de patogenicidad 115

Resumen 123

Bibliografía 123

Capítulo 15. Atributos del hospedero para resistir 125

RAQUEL DE LOS A. JUNCO DÍAZ Y CARLOS M. RODRÍGUEZ PÉREZ

Introducción 125

Mecanismos inespecíficos de defensa 125

Mecanismos específicos de defensa 129

Dinámica de la respuesta inmune 134

Hipersensibilidad 136

Inmunización 138

Resumen 139

Bibliografía 140

Sección III. Bacterias

Capítulo 16. Taxonomía, clasificación y nomenclatura de las bacterias 143

TERESITA A. LEIVA SÁNCHEZ

Introducción 143

Resumen 145

Bibliografía 145

- Capítulo 17. Mecanismos de defensa frente a las infecciones bacterianas 147**
ROLANDO F. OCHOA AZZE Y TERESITA A. LEIVA SÁNCHEZ
Introducción 147
Inmunidad frente a bacterias extracelulares 147
Inmunidad frente a bacterias intracelulares 150
Resumen 152
Bibliografía 152
- Capítulo 18. Estafilococos 153**
ALICIA MA. MARTÍNEZ IZQUIERDO Y JULIÁN I. PÉREZ AMARILLO
Introducción 153
Resumen 162
Bibliografía 162
- Capítulo 19. Streptococos 165**
JORGE L. ZUAZO SILVA
Introducción 165
Clasificación de los estreptococos 168
Resumen 177
Bibliografía 177
- Capítulo 20. Enterococos 179**
DIANELYS QUIÑONES PÉREZ
Introducción 179
Resumen 190
Bibliografía 191
- Capítulo 21. Bacilos grampositivos no esporulados: *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Listeria* y *Erysipelothrix* 193**
TERESITA A. LEIVA SÁNCHEZ
Introducción 193
Corynebacterium diphtheriae 193
Otros miembros del género. Su importancia clínica 196
Listeria 197
Erysipelothrix rhusiopathiae (*Erysipelothrix insidiosa*) 198
Resumen 199
Bibliografía 200
- Capítulo 22. Bacilos grampositivos esporulados aerobios: *Bacillus* 201**
TERESITA A. LEIVA SÁNCHEZ
Introducción 201
Bacillus anthracis 201
Otros bacilos aerobios esporulados de interés médico 203
Resumen 204
Bibliografía 204
- Capítulo 23. Clostridios 205**
TERESITA A. LEIVA SÁNCHEZ
Introducción 205
Clostridium botulinum 209
Clostridium tetani 211
Clostridios que producen enfermedades invasivas. *Clostridium perfringens* 212
Clostridios y enfermedad diarreica. *Clostridium difficile* 214
Resumen 215
Bibliografía 215
- Capítulo 24. Neisserias y *Moraxella catarrhalis* 217**
ISABEL MARTÍNEZ MOTAS
Introducción 217
Neisseria gonorrhoeae (gonococo) 219
Neisseria meningitidis (meningococo) 225
Moraxella catarrhalis 233
Otras neisserias 235
Resumen 236
Bibliografía 238

Capítulo 25. Bacilos y cocos gramnegativos anaerobios 239

ALICIA MA. MARTÍNEZ IZQUIERDO Y OLGA A. GINEBRA GONZÁLEZ

Introducción 239
Bacilos gramnegativos anaerobios 239
Bacteroides 240
Fusobacterium 242
Prevotella 244
Porphyromonas 245
Cocos gramnegativos anaerobios 246
Veillonella 247
Acidaminococcus 247
Megasphaera 248
Resumen 249
Bibliografía 249

Capítulo 26. Enterobacterias 251

MA. MARGARITA VALDÉS-DAPENA VIVANCO

Introducción 251
Infecciones en el hombre 254
Resumen 279
Bibliografía 279

Capítulo 27. *Haemophilus* y *Gardnerella vaginalis* 281

TERESITA A. LEIVA SÁNCHEZ

Haemophilus 281
Haemophilus influenzae 281
Gardnerella vaginalis 286
Resumen 288
Bibliografía 288

Capítulo 28. Cocobacilos gramnegativos pequeños: *Brucella*, *Bordetella*, *Francisella* y *Pasteurella* 289

OLGA A. GINEBRA GONZÁLEZ Y TERESITA A. LEIVA SÁNCHEZ

Introducción 289
Brucella 289
Bordetella 293
Francisella 297
Pasteurella 298
Resumen 300
Bibliografía 301

Capítulo 29. *Pseudomonas* 303

ALICIA MA. MARTÍNEZ IZQUIERDO, JULIÁN I. PÉREZ AMARILLO
Y MIRIAM F. PÉREZ MONRÁS

Introducción 303
Otras *Pseudomonas* de importancia clínica 310
Resumen 312
Bibliografía 312

Capítulo 30. *Acinetobacter* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores 313

ALICIA MA. MARTÍNEZ IZQUIERDO Y JULIÁN PÉREZ AMARILLO

Introducción 313
Acinetobacter 314
Achromobacter 317
Acidovorax 317
Agrobacterium 317
Alcaligenes 317
Chryseomonas 318
Comamonas 318
Eikenella 318
Flavimonas 318
Flavobacterium 318

Janthinobacterium 319
Kingella 319
Methylobacterium 319
Moraxella 319
Ochrobactrum 320
Oligella 320
Psychrobacter 320
Shewanella 320
Sphingobacterium 320
Sphingomonas 320
Suttonella 320
Weeksella 321
Stenotrophomonas 321
Resumen 322
Bibliografía 323

Capítulo 31. Legionelas 325

MIRIAM F. PÉREZ MONRÁS

Introducción 325
Resumen 332
Bibliografía 332

Capítulo 32. Vibrios 333

MA. MARGARITA VALDÉS-DAPENA VIVANCO

Introducción 333
Resumen 338
Bibliografía 338

Capítulo 33. Aeromonas y Plesiomonas 341

MA. MARGARITA VALDÉS-DAPENA VIVANCO

Introducción 341
Aeromonas 341
Plesiomonas 344
Resumen 345
Bibliografía 345

Capítulo 34. Campylobacter, Helicobacter y microorganismos afines 347

MA. MARGARITA VALDÉS-DAPENA VIVANCO

Campylobacter 347
Helicobacter pylori 352
Resumen 354
Bibliografía 354

Capítulo 35. Actinomicetos 355

ALICIA MA. MARTÍNEZ IZQUIERDO

Introducción 355
Actinomyces 355
Nocardia 358
Streptomyces 360
Resumen 361
Bibliografía 361

Capítulo 36. Micobacterias 363

ERNESTO MONTORO CARDOSO, ODELAISY SUÁREZ MORENO Y JOSÉ A.
VALDIVIA ÁLVAREZ

Introducción 363
Mycobacterium tuberculosis 363
Otras micobacterias 376
Otras especies de micobacterias 378
Resumen 384
Bibliografía 384

Capítulo 37. Microorganismos espirilares 387

OLGA A. GINEBRA GONZÁLEZ

Introducción 387

Treponema 388
Enfermedades relacionadas con la sífilis 397
Borrelia 398
Borrelia burgdorferi y enfermedad de Lyme 402
Leptospira 405
Otras enfermedades por espiroquetas 415
Resumen 416
Bibliografía 417

Capítulo 38. Micoplasmas y *Ureaplasma* 419

MIRIAM F. PÉREZ MONRÁS Y CARIDAD ALMANZA MARTÍNEZ

Introducción 419
Características generales de los micoplasmas 419
Mycoplasma pneumoniae y neumonías atípicas 422
Mycoplasma hominis 424
Ureaplasma urealyticum 425
Mycoplasma asociado al SIDA 425
Resumen 426
Bibliografía 426

Capítulo 39. Clamidias 427

MIRIAM F. PÉREZ MONRÁS Y CARIDAD ALMANZA MARTÍNEZ

Introducción 427
Clasificación de las clamidias 429
Resumen 439
Bibliografía 439

Capítulo 40. Rickettsias 441

NATALIO N. SVARCH SCHARAGER

Introducción 441
Características generales de las rickettsias 441
Multiplicación 442
Coloración 442
Cultivos 443
Animales parasitados. Inoculación experimental 443
Rickettsiosis humana 445
Resumen 454
Bibliografía 455

Sección IV. Hongos

Capítulo 41. Generalidades de micología 459

SILVIA MACOLA OLANO

Breve historia de la micología médica en Cuba 459
Generalidades de micología 460
Tipos de conidias o esporas asexuales 461
E esporas asexuales 461
Metabolismo de los hongos 461
Clasificación clínica de las micosis 462
Transmisión de las micosis 462
Resumen 462
Bibliografía 463

Capítulo 42. Inmunología de las micosis 465

GERARDO MARTÍNEZ MACHÍN Y MAYDA R. PERURENA LANCHA

Introducción 465
Mecanismos de resistencia natural a hongos patógenos 465
Mecanismos de resistencia celular 466
Mecanismos de inmunidad humoral en las infecciones micóticas 467
Mecanismos de protección contra los hongos mediados por anticuerpos 467
Mecanismos de escape de los hongos a la respuesta humoral 468
Mecanismos de inmunidad mediada por células en infecciones micóticas 468
Resumen 473
Bibliografía 474

- Capítulo 43. *Malassezia furfur*, *Piedraia hortae*, *Trichosporon beigelii* y *Phaeoannellomyces werneckii* 475**
SILVIA MACOLA OLANO
Malassezia furfur 475
Piedraia hortae y *Trichosporon beigelii* 477
Phaeoannellomyces werneckii 478
Resumen 479
Bibliografía 479
- Capítulo 44. **Dermatófitos 481****
SILVIA MACOLA OLANO
Introducción 481
Especies antropofílicas 481
Especies zoofílicas 482
Especies geofílicas 482
Resumen 485
Bibliografía 486
- Capítulo 45. **Hongos causantes de micetomas 487****
SONIA MOYA DUQUE
Introducción 487
Resumen 490
Bibliografía 490
- Capítulo 46. *Sporothrix schenckii* 491**
SONIA MOYA DUQUE
Introducción 491
Resumen 494
Bibliografía 495
- Capítulo 47. **Hongos causantes de cromomicosis 497****
SONIA MOYA DUQUE
Introducción 497
Resumen 499
Bibliografía 499
- Capítulo 48. *Candida* 501**
SILVIA MACOLA OLANO
Introducción 501
Factores predisponentes 501
Resumen 506
Bibliografía 507
- Capítulo 49. *Histoplasma capsulatum* 509**
CARLOS M. FERNÁNDEZ ANDREU
Introducción 509
Resumen 514
Bibliografía 515
- Capítulo 50. *Cryptococcus neoformans* 517**
CARLOS M. FERNÁNDEZ ANDREU
Introducción 517
Resumen 521
Bibliografía 521
- Capítulo 51. *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Blastomyces dermatitidis* 523**
CARLOS M. FERNÁNDEZ ANDREU
Coccidioides immitis 523
Paracoccidioides brasiliensis 526
Blastomyces dermatitidis 530
Resumen 532
Bibliografía 533

Capítulo 52. *Aspergillus* y hongos causantes de mucormicosis 535

SONIA MOYA DUQUE

Aspergillus 535

Hongos causantes de mucormicosis 537

Resumen 540

Bibliografía 540

Capítulo 53. Micosis oportunistas en pacientes con SIDA 541

GERARDO MARTÍNEZ MACHÍN Y MA. TERESA ILNAIT ZARAGOZI

Introducción 541

Pneumocistosis 542

Candidiasis 543

Criptococosis 545

Histoplasmosis 546

Coccidioidomicosis 547

Aspergilosis 547

Peniciliosis 548

Micosis oportunistas menos frecuentes 548

Resumen 549

Bibliografía 549

SECCIÓN I

Generalidades



Breve historia de la microbiología y la parasitología médicas

Gregorio Delgado García
Gregorio Delgado Rodríguez

MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA MÉDICAS

La microbiología y la parasitología médicas son las ramas de las ciencias médicas encargadas del estudio de los agentes biológicos que viven a expensas del hombre y producen enfermedades en él.

La palabra *microbiología* deriva de las voces griegas **mikros**, pequeño; **bios**, vida y **logos**, estudio; por lo que etimológicamente en ella se estudian los organismos demasiado pequeños para ser percibidos a simple vista. La palabra *parasitología* proviene de las voces griegas **para**, junto a; **sito**, comida y **logos**, o sea, que trata de los seres vivos que habitan en otro organismo viviente (hospedero) del cual obtienen su alimento. Y la palabra *médica* viene del latín **medicus**, cuya significación es que tiene relación con la medicina y esta, a su vez, del latín **medicina**, que es el arte y ciencia de conocer las enfermedades y de tratarlas o curarlas.

Por lo que en el sentido estricto de estos términos la parasitología médica comprendería el estudio de todos los agentes biológicos que viven en el hombre y lo enferman; sin embargo, clásicamente se considera a la microbiología médica como el estudio de los virus, bacterias y hongos patógenos de los seres humanos; y a la parasitología médica como el conocimiento de los protozoos, helmintos y artrópodos que viven a expensas del hombre y le producen enfermedades.

DESARROLLO HISTÓRICO DE LA MICROBIOLOGÍA Y LA PARASITOLOGÍA MÉDICAS

Cuando aún el hombre no había alcanzado el desarrollo técnico suficiente para poder observar y estudiar los microorganismos y considerarlos como causa de las enfermedades infecciosas, relacionó estas con un origen místico o religioso. No faltaron, sin embargo, quienes no aceptaron estas ideas y emitieron pareceres que llevaron al inicio del pensamiento científico en la medicina y al concepto de la infección.

Aunque en el Papiro de Ebers (1600 a.n.e.) se describe la tenia (*Taenia saginata*) y se prescribe la infusión de corteza de raíz de granado para su tratamiento, y los hebreos en época de Moisés (¿1725-1605 a.n.e.?) conocían los áscaris y oxiuros como agentes vivos capaces de enfermar al hombre, corresponde a Hipócrates de Kos (460-370 a.n.e.) y a Galeno de Pérgamo (129-200), con sus escuelas, dar inicio al conocimiento de la teoría microbiana del origen de las enfermedades infecciosas al concebir y desarrollar la hipótesis miasmática, en la cual enunciaban que: “los miasmas que en forma gaseosa debían formar parte del aire, al ser respirados, eran los responsables de enfermedades y epidemias”. Y en trabajos de estos dos sabios como en los de Marco Terencio Varrón (116-27 a.n.e.), Lucrecio Caro (95-55 a.n.e.) y Plinio el Viejo (23-79), quedó enunciada también la forma más primitiva de la hipótesis de la naturaleza viva o *contagium vivum* de las enfermedades infecciosas.

Avicena Ibn Sina (980-1037) fue más explícito en sus ideas y llegó a considerar que la causa de la aparición de las enfermedades contagiosas la constituían diminutos seres vivos, invisibles a simple vista, y que se transmitían por medio del agua y del aire.

Pero estas ideas no llegaron a tomar forma más orgánica hasta que al calor de algunas observaciones aisladas, pero evidentes, de transmisión directa de enfermedades, Girolamo Fracastoro (1478-1553), en 1546, enuncia la posibilidad de que las enfermedades fueran transmitidas por partículas demasiado pequeñas para ser vistas y escribe todo un libro, *De contagione et contagiosis morbis...* (1546), para exponer su concepto de *contagium vivum*.

Con el desarrollo de la física, la química y la medicina en la época del Renacimiento y durante el período de la Revolución Industrial de los siglos XVI a XVIII, en Europa se acumularon observaciones y resultados de investigaciones científicas, acerca de la esencia de las enfermedades infecciosas. A comienzos del siglo XVII, gracias a los progresos de la óptica, los investigadores pudieron descubrir el mundo misterioso de los organismos más pequeños, desconocido hasta entonces.

En 1590 dos constructores holandeses de gafas, Hans Janssen (+1619) y su hijo Zacharias (finales del siglo XVI y principios del XVII), construyeron un aparato con lentes de aumento que permitían ver los más pequeños objetos. En 1609 Galileo Galilei (1564-1642) construyó el primer microscopio simple. De 1617 a 1619, apareció ya un microscopio de dos lentes con un solo objetivo convexo y un ocular, cuyo autor, según se supone, fue el físico Cornelio Drebbel (1572-1634).

Al usar una variante de estos microscopios Athanasius Kircher (1602-1680), sacerdote jesuita alemán, vio lo que él llamó “mínima animálcula” (*animalia minuta*) en la tierra y en el agua, y en 1668 creyó incluso haber encontrado “gusanos” en la sangre de febricitantes. Aunque su descripción no es muy convincente, lo importante es que Kircher puso el microscopio al servicio de las investigaciones diagnósticas y sus trabajos para descubrir un *contagium animatum* lo colocan entre los iniciadores de la microbiología.

Pero el primero que vio y describió los microbios fue el investigador holandés Antonj van Leewenhoek (1632-1723), el cual por sí mismo preparó sencillas lentes que daban aumento hasta de 160 a 300 veces. Este autor no sólo descubrió, indiscutiblemente, los microbios, sino que los dibujó con minuciosidad.

Los descubrimientos de Leewenhoek despertaron vivísimo interés en muchos hombres de ciencias y sirvieron de estímulo para el estudio del mundo microscópico, aunque, a pesar de ello, durante largo tiempo no pudieron aplicar los resultados de esas admirables investigaciones para explicar las causas de las enfermedades infecciosas.

No obstante, desde el inicio de la microbiología se hicieron intentos para vincularla a la resolución de las tareas prácticas de la lucha contra las epidemias. Son de resaltar en este sentido las ideas de Marco A. von Plenciz (1705-1786), médico vienés, que en 1762 emitió su opinión de que: las enfermedades infecciosas eran producidas por microorganismos; estos eran agentes vivos; que se reproducían en el organismo que atacaban; cada enfermedad tenía su propio germen y que este podía ser llevado de un sitio a otro por el aire y por las secreciones de los atacados. Aunque nada de esto pudo ser demostrado por el autor, la mayoría de sus conclusiones han resistido el tiempo, y hoy se consideran como hechos ya probados. También observó la presencia de “animálculos” en la harina para la preparación del pan, y los consideró como causantes de la fermentación.

Con el transcurso del tiempo el hombre mejoró su conocimiento sobre el origen de las enfermedades infecciosas. Cada vez eran menos los que aceptaban la concepción de base

puramente mística de la generación espontánea y a la puramente miasmática de la infección sobre su propia fuente: el aire, suelo o agua, agregó el contacto directo de hombre a hombre o contagionismo y por contraposición a esta idea, al quedar sin explicación muchas enfermedades, había surgido el anticontagionismo.

La larga disputa entre contagionistas, miasmático-contagionistas y anticontagionistas por explicar la historia natural de todas las enfermedades infecciosas, fue resuelta, definitivamente, muchos años después, por nuestro genial Carlos J. Finlay (1833-1915) al descubrir la transmisión metaxénica, teoría del vector biológico; o sea, la necesidad de tres factores vivientes (hospedero, parásito y vector) para el completo ciclo de existencia del agente causal.

Con el desarrollo del capitalismo industrial, que determinó un intenso crecimiento de las ciencias naturales y técnicas, los estudios sobre microbiología entraron en la vía de un rápido auge. Ya en la primera mitad del siglo XIX fueron descubiertos algunos microorganismos agentes de enfermedades infecciosas y en la segunda mitad de ese siglo se fabricaron microscopios más perfectos que mejoraron considerablemente la técnica de su empleo. En el estudio de los microorganismos se comenzó a prestar atención, sobre todo, a los procesos bioquímicos, y se llegó a probar la capacidad de los mismos de fermentar sustancias orgánicas.

Al genial investigador francés Louis Pasteur (1822-1895) van asociados tan importantes descubrimientos de esa época en el campo de la microbiología, que Ferdinand Cohn (1828-1898) dividió la historia de esta ciencia, tomándolo como centro a él, en tres grandes períodos: el primero, que comprendería desde Kircher hasta 1860 en que se inician los grandes descubrimientos de Pasteur, al que califica como período de especulación o prepasteuriano; el segundo, de 1860 a 1880, en el cual se sientan las bases de los descubrimientos basales o pasteurianos; y el tercero, de 1881 a nuestros días, que se caracteriza por los rápidos y sorprendentes descubrimientos o período postpasteuriano.

Pasteur confirmó brillantemente las predicciones del físico y filósofo del siglo XVII Robert Boyle (1627-1691), de que la naturaleza de las enfermedades infecciosas la comprendería quien explicase la naturaleza de la fermentación; echó por tierra definitivamente con sus experimentos la hipótesis de la generación espontánea y colocó en su lugar, mejorándola, la teoría microbiana.

Pero fue Gustav Henle (1809-1885) quien señaló por primera vez las pautas para considerar que un germen era la causa de una enfermedad determinada. Su argumento consistió en que para poder probar la relación existente entre un microorganismo y una entidad nosológica, es necesario que aquel se encuentre siempre presente en ella, poderlo aislar y comprobar posteriormente, inoculándolo a los animales, los efectos del mismo.

Los perfeccionamientos técnicos introducidos por el sabio y genial Robert Koch (1843-1910) y sus colaboradores, tales como los medios de cultivos sólidos, los colorantes de anilina, importantes mejoras del microscopio y otros, permitieron a este, corroborando las ideas de Henle, emitir en 1882 sus famosos postulados, que son los siguientes:

1. El microorganismo debe estar presente, en abundancia, en los tejidos, sangre o excretas del animal que sufre la enfermedad.
2. Debe ser aislado y estudiado en cultivo puro.
3. Debe ser capaz de reproducir la misma enfermedad cuando es inoculado a animales sanos.
4. Debe ser encontrado, también en abundancia, en los animales así inoculados experimentalmente.

Aunque los postulados de Koch, derivados de las ideas de Henle, no son siempre totalmente exactos y un nuevo concepto de la enfermedad infecciosa existe hoy en la medicina, ellos hicieron avanzar extraordinariamente la microbiología médica al extremo que, en las dos últimas décadas del siglo XIX, se describieron casi todos los microorganismos bacterianos principales causantes de enfermedades infecciosas.

El impetuoso desarrollo científico-técnico alcanzado en el siglo XX imposibilita siquiera bosquejar el desarrollo de la microbiología y la parasitología médicas en sus diferentes aspectos: virológico, bacteriológico, micológico, parasitológico, inmunológico, bioquímico,

químico-antibioticoterapéutico y genético, y mostrar el infinito campo de posibilidades que estas ramas de las ciencias médicas, bien constituidas hoy, le ofrecen al bienestar futuro de la humanidad.

LA MICROBIOLOGÍA Y LA PARASITOLOGÍA MÉDICAS EN CUBA

A fines del siglo XVIII la prosperidad que trae a la colonia el cultivo del tabaco, el café y el azúcar, determina un auge considerable de todas las manifestaciones de la cultura. El escolasticismo imperante se va sustituyendo en medicina por el movimiento científico iniciado en Cuba por el notable médico doctor Tomás Romay Chacón (1764-1849), que manipula el primer producto microbiológico, al comenzar entre nosotros la vacunación antivariólica en 1804.

Con un poco de retardo llegará el microscopio a nuestro país. En febrero de 1829 se exhibe este instrumento frente a la imprenta del *Diario de La Habana*. A su regreso de los Estados Unidos graduado de médico en 1855, el doctor Carlos J. Finlay Barrés trae un microscopio con el que comenzará en 1858 sus estudios sobre la fiebre amarilla y lo mismo hará desde París en 1877 el doctor Francisco F. Rodríguez Rodríguez (1836-1897), para fundar ese mismo año en La Habana el primer laboratorio clínico. Otros médicos notables de la época pronto se familiarizan con la microscopia, como los doctores Joaquín García Lebrado y Lladó (1833-1889), y Enrique Núñez Rossí (1852-1887).

Pero el verdadero inicio de la microbiología tendría que esperar por los progresos científicos que alcanza el país en el llamado período entre guerras (1879-1894) en que aprovechando la importación del agar, los doctores Carlos J. Finlay y Claudio Delgado Amestoy (1843-1916), autodidactamente, preparan medios de cultivo sólidos en 1886 y siembran productos patológicos de enfermos de fiebre amarilla, para tratar de encontrar inútilmente el agente causal de dicha enfermedad.

A finales de ese año una comisión de médicos cubanos integrada por los doctores Diego Tamayo Figueredo (1853-1926), Francisco I. Vildósola González (1856-1933) y Pedro Albarrán Domínguez (1854-1911), a iniciativa del doctor Juan Santos Fernández y Hernández (1847-1922), se traslada a París para entrenarse junto a Pasteur en la técnica de la vacunación antirrábica. Los dos primeros tomaron, con el profesor André Chantemesse (1851-1919), un curso en el Laboratorio de Bacteriología de la Escuela Práctica y serán nuestros dos primeros especialistas en esta rama de la medicina.

A raíz de su regreso se inaugura el 8 de mayo de 1887 el Laboratorio Histobacteriológico e Instituto Antirrábico de La Habana, fundado por Santos Fernández, primero de América Latina y pocos meses después de inaugurado el primero en nuestro continente, donde se inicia la práctica especializada de la microbiología y su enseñanza en Cuba, esta última por el doctor Tamayo.

Son tantos los médicos cubanos que en estos primeros tiempos se van a familiarizar con las técnicas microbiológicas, que sólo citaremos a los que fallecieron a consecuencia de sus investigaciones: Pedro Fernández Díaz a causa del muermo; Ignacio Calvo y Cárdenas (1860-1911), de infección estreptocócica; Juan N. Dávalos Betancourt (1857-1910), primer cubano dedicado a tiempo completo a la microbiología; Ricardo Más y Gerardo Gutiérrez, por el bacilo tuberculoso que a diario manipulaban; y Jorge de la Peña, por el bacilo antracis.

Las primeras referencias de nuestra bibliografía científica acerca de parasitología médica aparecen sobre parásitos macroscópicos. Así, en 1842, el doctor Nicolás J. Gutiérrez Hernández (1800-1890), fundador de la Real Academia de Ciencias Médicas, Físicas y Naturales de La Habana (1861) y de la prensa médica en Cuba (1840), extrae del ojo izquierdo de un esclavo africano de unos 17 años de edad una filaria *Loa loa*.

El doctor Carlos J. Finlay, que fue quien puso el microscopio al servicio de la microbiología en general en nuestro país, informa en 1881 por primera vez en América la presencia de la filaria *Wuchereria bancrofti* y son de gran importancia los trabajos del doctor Tomás V. Coronado Interián (1855-1928) sobre los plasmodios del paludismo.

Con el cese de la dominación española, el mundo científico reconoce el descubrimiento del doctor Finlay de la teoría metaxénica o del agente intermediario en la transmisión de enfermedades infecciosas, aplicada en prueba de campo, en nuestro país, por la IV Comisión del

Ejército Norteamericano para el Estudio de la Fiebre Amarilla y se fundan en 1899 la cátedra de Bacteriología y Patología Experimental, desempeñada durante unos meses por el doctor Francisco I. Vildósola y definitivamente por el doctor Aristides Agramonte Simoni (1868-1931), y la de Patología de Afecciones Intertropicales por el doctor Juan Guiteras Gener (1852-1925), eminentes tropicalistas de fama internacional.

Durante el período de república burguesa (1902-1958) el entusiasmo por las investigaciones microbiológicas y parasitológicas va a ceder paso a una más utilitaria práctica privada de la especialidad, concentrada casi exclusivamente en La Habana, a pesar de lo cual logran verdadero prestigio algunos científicos como los doctores Mario García-Lebreo Arango (1866-1931); Alberto Recio Forns (1885-1956); Reinaldo Márquez Camacho (1889-1954); Ildefonso Pérez Viguera (1892-1959); Pedro Kourí Esmeja (1900-1964), fundador en 1937 del Instituto de Medicina Tropical; Arturo Curbelo Hernández (1901-1973); José G. Basnuevo Artilles (1903-1968); Federico Sotolongo Guerra (1905-1997); Ramón Vidal Vidal (1915-1983?); Antonio Palacín Aranda (1915-1985) y Aida Jaime González (1915-1998).

Con el triunfo revolucionario de 1959 y la instauración del socialismo en Cuba, se lleva la práctica bacteriológica a todo el país; en 1962 se establece la especialidad de Microbiología Médica; se desarrollan los estudios virológicos por el doctor Pedro Más Lago en el Instituto Nacional de Higiene; se revitaliza el Instituto de Medicina Tropical, ahora con el nombre del profesor Pedro Kourí; los laboratorios de bacteriología y las cátedras se multiplican, se fundan nuevos centros de investigaciones de perspectivas insospechadas años antes, como el Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CENIC), el Centro de Inmunoensayo, el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, y el Instituto Finlay; por último, la microbiología médica cubana rebasa nuestras fronteras, al igual que toda nuestra medicina, para llegar en forma de ayuda solidaria internacionalista a los países más necesitados de África, Asia y América Latina.

RESUMEN

El desarrollo histórico de la microbiología y la parasitología médicas está unido a la necesidad del hombre por conocer las causas de las enfermedades que lo han aquejado a lo largo del tiempo. Así ha elaborado concepciones místicas, miasmáticas, contagionistas, anticontagionistas y metaxénicas para explicar la historia natural de todas ellas.

Pero indudablemente lo que le dio mayor impulso fue la invención del microscopio a finales del siglo XVI, el descubrimiento de los primeros microorganismos en el siglo XVII y la demostración de su papel como causantes de enfermedades infecciosas en el siglo XIX.

El impetuoso desarrollo científico-técnico alcanzado en estas dos ramas de las ciencias médicas en el siglo XX imposibilita siquiera bosquejarlas en sus diferentes aspectos: virológico, bacteriológico, micológico, parasitológico, inmunológico, bioquímico, químico-antibioticoterapéutico y genético, y mostrar el infinito campo de posibilidades que las mismas le ofrecen al bienestar futuro de la humanidad.

El microscopio llegó a Cuba en la primera mitad del siglo XIX y en la segunda se puso al servicio de la medicina al realizarse con él investigaciones sobre la fiebre amarilla, filariasis y paludismo, principalmente.

Durante el período republicano burgués (1902-1958) el entusiasmo por las investigaciones microbiológicas y parasitológicas va a ceder paso a una más utilitaria práctica privada de la especialidad, concentrada casi exclusivamente en La Habana, lo que no impide que logren verdadero prestigio algunos científicos cubanos.

Con el triunfo revolucionario de 1959 y la instauración del socialismo en Cuba, se lleva la práctica bacteriológica a todo el país; se desarrollan las investigaciones virológicas, se fundan nuevos centros de investigaciones de perspectivas insospechadas años antes y, por último, la microbiología y la parasitología médicas cubanas rebasan nuestras fronteras, al igual que toda nuestra medicina, para llegar a los países más necesitados del llamado Tercer Mundo.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar FJ. Parasitología Médica. Guatemala: Litografía Delgado, 1987.
Curbelo A. Historia de la Bacteriología. En: Curbelo A. Texto de Bacteriología. La Habana: MV Fresneda (ed.), 1942:1-43.

- . Cronología microbiana. *En*: Curbelo A. Texto de Bacteriología. La Habana: MV Fresneda (ed.), 1942:44-59.
- . Sinopsis biográficas. *En*: Curbelo A. Texto de Bacteriología. La Habana: MV Fresneda (ed.), 1942: 60-95.
- Delgado G. La Doctrina Finlaísta. La Habana: Cent. Nac. Inf, 1982.
- Frobisher M. Orígenes de la microbiología y bases químicas de la vida microbiológica. *En*: Frobisher M. Microbiología. 8va ed. inglés. 4ta ed. español. Barcelona: Salvat Editores, 1969:3-15.
- . Microbiología y Microscopia. *En*: Frobisher M. Microbiología. 8va ed. inglesa. 4ta ed. española. Barcelona: Salvat Editores, 1969:16-37.
- Guerra F. Historia de la medicina. 2 tomos. Madrid: Ed. Norma SA, 1990.
- . La educación médica en Hispanoamérica y Filipinas durante el dominio español. Alcalá de Henares, Madrid: Coord. Ed. IMC, 1998.
- Joklik WK et al. Desarrollo histórico de la microbiología médica. *En*: Joklik WK, Willet HP, Bernard Amos D (eds.), Zinsser. Microbiología. 7ma ed. español, 1983. T.1. La Habana: Ed. Revolucionaria, 1984:15-21.
- López J. Finlay. El hombre y la verdad científica. La Habana: Ed. Científico-Técnica, 1987.
- Smith DT et al. Bosquejo histórico y alcance de la Bacteriología. *En*: Smith DT et al. Microbiología de Zinsser. 3ra ed. español, 1967. T.1. La Habana: Ed. Revolucionaria. Instituto del Libro, 1972:1-14.

A graphic featuring a light-colored, textured oval shape. Inside the oval, the word "Capítulo" is written in a purple, serif font at the top, and the number "2" is written in a larger, bold purple serif font below it. A horizontal purple line extends from the right side of the oval across the page.

Capítulo 2

Nomenclatura y clasificación de los microorganismos

Gregorio Delgado García
Gregorio Delgado Rodríguez

Como partes muy importantes del estudio de los seres vivos en general y de los microorganismos en particular están, indiscutiblemente, su nomenclatura y su clasificación. Universalmente se acepta como nomenclatura la ideada por el sabio naturalista sueco Carl von Linnaeus (1707-1778), conocida como *nomenclatura binaria*, pues en ella se designa a cada ser vivo con dos nombres, uno genérico, que se escribe con letra mayúscula; y otro específico, el cual se escribe con minúscula. Así, al perro común se le llama *Canis familiaris*; a un verme o gusano que parasita al hombre, *Ascaris lumbricoides* y a una bacteria que produce fiebre tifoidea en los seres humanos, *Salmonella typhi*; *Canis*, *Ascaris* y *Salmonella* corresponden a los géneros; y *familiaris*, *lumbricoides* y *typhi* a las especies.

La diversidad de los seres vivos es tan grande que es preciso clasificarlos en varias categorías, según diferentes caracteres. Así la primera categoría, comenzando de la más simple a la más compleja, la constituye el individuo; una tortuga o un elefante que tenemos frente a nosotros son individuos.

La reunión de individuos semejantes da una especie. Todos los perros, desde el sahuero hasta el galgo, son individuos de una misma especie.

Dentro de las especies hay variedades y razas. Se consideran como variedades los individuos que difieren de los demás de su especie en uno o varios caracteres secundarios (distinto color y tamaño, mayor o menor fecundidad). Cuando esos caracteres se transmiten a los descendientes, se tiene una raza. Por lo general, la categoría variedad se usa en las plantas y la de raza en los animales. Últimamente se agrupan también en formas y formas especiales, y a las razas se les llaman razas fisiológicas.

Las especies que tienen cierto parentesco dan un género; por ejemplo, el caballo, el asno y la cebra son del mismo género. A veces las especies se agrupan en series y secciones, las que a su vez dan los géneros. Con los géneros se forman las tribus, con estas las familias, las cuales se reúnen en órdenes y los órdenes en grupos, para dar las clases.

Un conjunto de clases da una rama y un conjunto de ramas o clases un tipo. Los tipos, que también reciben los nombres de división o phylum (**phylum** quiere decir división, en latín), dan un reino y los reinos se agrupan modernamente en dominios.

Con frecuencia hay que establecer otras agrupaciones intermedias y entonces se denominan subfamilias, subórdenes o subclases; y también superfamilias, superórdenes o superclases.

Por lo tanto, tenemos desde la categoría más compleja a la más simple las siguientes: dominio; reino; tipo, phylum o división; rama; clase; grupo; orden; familia; tribu; género; sección; serie; especie; variedad; forma; forma especial; raza fisiológica e individuo.

No siempre es necesario utilizar todas estas categorías para clasificar un microorganismo. Pongamos de ejemplo al *Histoplasma capsulatum*, hongo causante de la histoplasmosis en el hombre.

Jerarquía nomenclatural

Dominio	Eukaryota
Reino	Fungi
División	Ascomycota
Clase	Ascomycetes
Orden	Onygenales
Familia	Onygenaceae
Género	
Estado asexual	<i>Histoplasma</i>
Especie	
Estado asexual	<i>Histoplasma capsulatum</i> Darling, 1906
Variedad	
Estado asexual	<i>Histoplasma capsulatum</i> Darling, 1906 var. <i>capsulatum</i>

La nomenclatura de las categorías que van de división a tribu tienen sufijos propios que las identifican y que han variado muchas veces a través del tiempo; no así las categorías inferiores como género y especie, cuyos sustantivos específicos incluyen un nombre genérico latinizado y uno trivial de la especie, como, por ejemplo, *Mycobacterium leprae*, *Haemophilus influenzae* o *Ancylostoma duodenale*.

La categoría o taxón (de ahí el nombre de taxonomía que se le da a la clasificación) de mayor importancia es el reino, la cual ha tenido un variado desarrollo conceptual desde la antigüedad hasta nuestros días.

Desde los tiempos de Aristóteles (384-322 a.n.e.), los seres vivos se han agrupado en dos grandes reinos: Vegetal y Animal. Sin embargo, hoy se sabe que las plantas y los animales no forman unidades sistemático-taxonómicas naturales, por lo que el reconocimiento de únicamente dos reinos sólo ha sobrevivido como una subdivisión general de la biología.

En el siglo XIX (1866), el biólogo alemán Ernest Haeckel (1834-1919) propuso un tercer reino, Protista, que incluía a los organismos unicelulares, los cuales constituyen ejemplos intermedios entre los animales y las plantas. Esto es lo que se conoce como el sistema de tres reinos.

Los conocimientos aportados por los hombres de ciencias en años posteriores sobre las bacterias, algas, hongos y protozoarios hizo imposible mantenerlos a todos en la categoría o reino de Protista, y hubo necesidad de subdividir este en dos subreinos: el de los protistas inferiores y el de los superiores.

A los protistas inferiores correspondían aquellos agentes biológicos que poseen estructura celular procariótica, que es la célula menos compleja, como las bacterias y algas verde-azules o cianofíceas. A los protistas superiores correspondían el resto de las algas, los protozoarios y los hongos, los cuales tienen estructura celular eucariótica, que es la célula más compleja y la que poseen también los vegetales y animales.

Por todo esto los científicos William Rothmaler en 1948 y Herbert F. Copeland (1902-1968) en 1956 propusieron, con algunas variaciones, el sistema de cuatro reinos, que comprende:

1. Akarybionta, incluye bacterias y algas verde-azules (procariotas).
2. Protobionta, protozoos, hongos y resto de algas (eucariotas).

3. Gasterobionta, animales típicos.
4. Cormobionta, plantas típicas.

Robert H. Whittaker (1924-1980) en 1969 propuso el sistema de cinco reinos, que es un atractivo y bien argumentado ordenamiento muy aceptado en la actualidad por los naturalistas de todo el mundo. En él se da categoría de reino a los hongos y es como sigue:

1. Moneras, agrupa bacterias y algas verde-azules (procariotas).
2. Protistas, protozoos y resto de algas (eucariotas).
3. Hongos, con nutrición absorbtiva.
4. Plantas, caracterizadas por la fotosíntesis.
5. Animales, con nutrición ingestiva.

En 1982 Lynn Margulis y Karlene V. Schwartz agruparon los reinos en dos dominios: Prokaryota y Eukaryota, en los que se reúnen los seres vivos según su estructura celular, sin considerar entre ellos a los virus.

En los últimos tiempos (1983 y 1993) el naturalista Thomas Cavalier-Smith ha propuesto y fundamentado un nuevo sistema de seis reinos, al dividir el reino Protista en Protozoa y Chromista, para quedar como sigue:

1. Monera, integrado por bacterias y algas verde-azules.
2. Protozoa, protozoos y hongos con fases flageladas y plasmodiales.
3. Chromista, algas doradas, pardas y otros hongos inferiores con fases flageladas.
4. Fungi, hongos pluricelulares carentes de fases flageladas.
5. Plantae, organismos pluricelulares caracterizados por la fotosíntesis.
6. Animalia, metazoarios con nutrición ingestiva.

Por las dificultades que implica el ordenamiento taxonómico de los organismos, en microbiología y parasitología médicas se utiliza una clasificación arbitraria que agrupa a estos agentes, en dependencia del grado creciente de complejidad en su organización, en: virus, clamidias, micoplasmas, rickettsias, bacterias, espiroquetas, hongos, protozoos, helmintos y artrópodos, que es la que seguimos en la presente obra.

RESUMEN

Universalmente se acepta como nomenclatura para clasificar los seres vivos la llamada binominal, ideada por Linnaeus en el siglo XVIII, pues en ella se designan para identificar cada ser viviente dos nombres, uno genérico y otro específico.

La enorme diversidad de los seres vivos ha determinado el uso de numerosas categorías para precisar su clasificación, que en la actualidad comprende: dominio; reino; tipo; phylum o división; rama; clase; grupo; orden; familia; tribu; género; sección; serie; especie; variedad; forma; forma especial; raza fisiológica e individuo.

Con frecuencia hay que establecer otras agrupaciones intermedias y entonces se denominan: subreino, subdivisión o subrama y también superclase, supergrupo o superorden.

La nomenclatura de las categorías que van de división a tribu tienen sufijos propios que las identifican y que han variado muchas veces en el tiempo; no así las categorías inferiores como género y especie, cuyos sustantivos específicos incluyen un nombre genérico latinizado y uno trivial de la especie.

La categoría de mayor importancia es el reino, la cual ha tenido un variado desarrollo conceptual desde la antigüedad hasta nuestros días.

BIBLIOGRAFÍA

- Cavalier-Smith T. A 6-Kingdom classification and unified phylogeny. *In*: Schwemmel and Schenk HEA (eds.). *Endocytobiology II*. Berlin: De Gruyter, 1983.
- Copeland HF. *The classification of lower organisms*. San Francisco: W H Freeman Ed., 1960.
- Hawksworth DL et al. *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi*. 8th ed. Cambridge: CAB International, Cambridge University Press, 1995.

- Hernández JL. Cinco reinos versus dos reinos. *Educación* 1990;76:56-63.
- Margulis L and Schwartz KV. Five Kingdoms. An illustrated guide to the Phyla of life on Earth. San Francisco: W H Freeman Ed., 1982.
- Martínez J et al. Microbiología General. Guantánamo: Comb. Polig. "Juan Marinello", 1990.
- Recio G, Rodríguez M y Maldonado S. Sistemática Vegetativa. I Algas y Hongos. La Habana: Ed. Textos y Materiales Didácticos, 1982.
- Villafuerte JR. Agentes Biológicos. Folleto Complementario. La Habana: Ed. Pueblo y Educación, 1989.
- Wheat RW. Clasificación e identificación de las bacterias. *En*: Joklik WK et al. Zinsser. Microbiología. 8va ed. española (1983). La Habana: Ed. Revolucionaria, 1984.
- Whittaker RH. New concepts of kingdoms of organisms. *Science*, 1969;163:150-60.



Principios básicos de epidemiología en las enfermedades transmisibles

Eugenio Cisneros Despaigne

INTRODUCCIÓN

La epidemiología es la ciencia que estudia los determinantes, ocurrencia y distribución de los problemas afines a la salud y enfermedad relacionados con una población en su conjunto. Los estados de salud y enfermedad dependen de tres elementos fundamentales:

1. *Agente causal*: microorganismos, agentes físicos (calor, frío, electricidad, etc.), agentes químicos (tóxicos y otros).
2. *Hospedero*: estado nutricional, defensa inmunológica, edad, sexo.
3. *Ambiente*: temperatura, humedad, agua, alimentos, vectores, luz solar.

El campo de acción de esta rama de la medicina se dirige fundamentalmente hacia la prevención, la erradicación y el control de las enfermedades transmisibles.

Muchas de las enfermedades transmisibles causaron notables epidemias al hombre, por ejemplo: la viruela, el cólera, el tifus y el paludismo. En este último siglo, por factores socioeconómicos principalmente, algunas enfermedades que se creían erradicadas o controladas, renacen con un patrón de virulencia inesperado.

Algunas de ellas han ido desapareciendo, sin embargo, otras nuevas han surgido como el SIDA y algunas han resurgido afectando a nuevas áreas geográficas, como el cólera; o con patrones de mayor resistencia a los antibióticos, como la shigelosis o la tuberculosis.

También de especial atención son los microorganismos de nueva aparición, como el retrovirus del SIDA o VIH, el virus de Ébola (filovirus) y el virus Lassa (arenavirus), entre otros.

Se plantea que las afectaciones al medio ambiente, ya sean naturales (ciclones, terremotos, etc.) o artificiales (construcción de las presas, carreteras y otras), han favorecido la aparición de nuevos agentes patógenos que circulan con gran rapidez.

ENFERMEDAD TRANSMISIBLE

Es cualquier enfermedad producida por un agente infeccioso específico o por sus productos tóxicos que son capaces de transmitirse desde un enfermo o portador (reservorio)

hasta un hospedero susceptible, independientemente de la forma o mecanismo en que se produzca la transmisión.

Una enfermedad transmisible tiene las siguientes características:

Su causa determinante es un agente biológico específico (bacterias, virus, hongos, protozoarios). También puede ser causada por sus toxinas. Este agente o sus toxinas puede transmitirse de un enfermo a un sano (de un reservorio a un hospedero susceptible).

ENFERMEDADES INFECCIOSAS EMERGENTES

Son las enfermedades de origen infeccioso cuya incidencia en humanos se ha incrementado desde las décadas pasadas o tienden a aumentar en el futuro cercano. Por ejemplo, la aparición de agentes patógenos nuevos como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y otros retrovirus, los arenavirus, los hantavirus y el virus de Ébola.

Algunos factores o la combinación de ellos pueden contribuir a infecciones emergentes como son los eventos sociales, cuidado de la salud, producción de alimentos, comportamiento humano, cambios ambientales, infraestructura en la Salud Pública y adaptación y variabilidad microbiana.

ENFERMEDADES INFECCIOSAS REEMERGENTES

Es la reaparición de agentes patógenos viejos, como los que causan el cólera, el dengue hemorrágico, la peste y la fiebre amarilla. Pueden surgir por cambios genéticos en microorganismos existentes; algunas muestran una distribución focal, otras se dispersan ampliamente y constituyen un problema global. Ciertas enfermedades conocidas podrían aparecer en la vida humana en algunas condiciones ecológicas variables donde se incrementa la exposición a insectos como vectores y otros animales como reservorios o en fuentes ambientales como patógenos novedosos.

Esta reemergencia puede ocurrir por el desarrollo de la resistencia microbiana de infecciones existentes (por ejemplo: gonorrea, malaria, enfermedades neumocócicas) o resquebrajamiento en las medidas de la Salud Pública para infecciones previamente controladas (cólera, tuberculosis).

Además la mutación de algunas cepas de *Mycobacterium tuberculosis*, enterobacterias, estafilococos, neumococos, gonococos, parásitos de la malaria y otros agentes patógenos que son resistentes a uno o varios medicamentos, de ahí que la farmacorresistencia constituya uno de los problemas principales en el control de estas infecciones.

MECANISMO O VÍA DE TRANSMISIÓN

Es el conjunto de todos los factores característicos de cada enfermedad transmisible y su modo de actuar, representando los mecanismos mediante los cuales un hospedero susceptible es expuesto a un agente infeccioso, o sea, constituye los modos en que un agente biológico puede ser transmitido desde su reservorio.

Existen dos vías fundamentales de transmisión de la enfermedad, la directa y la indirecta.

La transmisión por *vía directa* es la que se establece sin vínculo de transmisión. Puede ser:

1. Inmediata o por contacto físico.
2. Mediata o por contacto personal.
3. Exposición directa de un tejido susceptible al hábitat de un agente infeccioso de vida saprófita.
4. Transmisión vertical o congénita.

La transmisión por *vía indirecta* (con vínculo de transmisión) es posible por:

1. Vehículos inanimados:
 - a) Agua.
 - b) Alimentos.

- c) Tierra.
 - d) Fomites.
 - e) Objetos.
 - f) Medicamentos y productos químicos.
2. Vehículos aéreos:
 - a) Inhalación.
 - b) Depósitos en piel y mucosas.
 - c) Depósitos en heridas.
 3. Vehículos vectoriales:
 - a) Mecánico-biológicos.
 - b) Permanentes.
 - c) Temporal o transitorio.

La clasificación más práctica de las enfermedades transmisibles es la basada en su vía de transmisión, o sea:

1. Digestiva.
2. Respiratoria.
3. Contacto de piel y mucosas.
4. Vectores (artrópodos y roedores).
5. Imprecisa o indeterminada.

Enfermedades de transmisión digestiva. En estas enfermedades el agente biológico penetra por el orificio superior del sistema digestivo, que puede tener o no como vehículo los alimentos o el agua.

A este grupo de enfermedades que se transmiten por vía digestiva pertenecen, entre otras, las siguientes: fiebre tifoidea, colibacilosis, salmonelosis, shigelosis, cólera, poliomielitis anterior aguda, hepatitis virales, ascariasis, tricocefalosis, oxiuriasis, taeniasis, amebiasis, balantidiasis, giardiasis, enterovirus, intoxicaciones alimentarias y rotavirus.

Enfermedades de transmisión respiratoria. Los agentes que producen estas afectaciones penetran por las fosas nasales o la boca y atraviesan las distintas barreras defensivas del sistema respiratorio hasta alcanzar los tejidos más susceptibles. Esta transmisión puede ocurrir por la inhalación de agentes microbianos que se encuentran en el aire.

Entre las enfermedades que se transmiten por vía respiratoria tenemos las siguientes: tuberculosis, difteria, tos ferina, parotiditis epidémica, varicela, sarampión, rubéola, escarlatina, meningoencefalitis meningocócica, influenza, adenovirus, rinovirus, histoplasmosis, coccidioidomicosis y legionelosis.

Enfermedades que se transmiten por contacto. En este tipo de transmisión es necesaria una relación física entre el reservorio y el organismo susceptible, pues sus agentes biológicos poseen muy poca resistencia al medio ambiente. Entre las enfermedades que se transmiten por contacto podemos citar: la sífilis, blenorragia, chancro blando, condiloma acuminado, linfogranuloma venéreo, granuloma inguinal venéreo, herpes simple genital, tricomoniasis, epidermofitosis, pediculosis, rabia, tétanos, gangrena gaseosa, micosis, necatoriasis y esquistosomiasis. Algunos de los agentes productores de estas enfermedades necesitan de la existencia de una solución de continuidad de la piel como es el caso de *Treponema pallidum*, productor de la sífilis.

Enfermedades que se transmiten por vectores. Esta transmisión se produce si los artrópodos u otros vectores inoculan el agente biológico mediante la picadura o el depósito de este sobre la piel o mucosas del organismo susceptible.

A continuación relacionamos los principales vectores biológicos y las enfermedades que se transmiten:

1. *Mosquitos*: malaria, dengue, wuchereriosis, fiebre amarilla, encefalomielitis equina y otras encefalitis por arbovirus.
2. *Moscas*: tripanosomiasis africana y loasis.
3. *Chinche americana o triatoma*: enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana).
4. *Piojos*: tifus epidémico y fiebre recurrente.

5. *Pulgas*: tifus endémicos y peste bubónica.
6. *Acaros*: rickettsiasis.
7. *Garrapatas*: fiebre hemorrágica y tularemia.
8. *Flebótomas*: leishmaniasis.
9. *Simúlidos*: oncocercosis.

Enfermedades de transmisión desconocida. A este grupo pertenecen las enfermedades donde los conocimientos científicos no son suficientes para definir los mecanismos de transmisión de patologías tales como: la lepra, la enfermedad de los legionarios, la fiebre de Lassa, y otras.

CONCEPTO DE INFECCIÓN

En términos epidemiológicos significa la penetración, multiplicación e invasión de un agente infeccioso en el cuerpo del hombre o de los animales, sin que generalmente haya signos ni síntomas de la enfermedad que ellos producen: los individuos portadores de *Salmonella typhi* y *Vibrio cholerae*.

Varios factores van a determinar la evolución del suceso infeccioso:

Por parte del individuo: resistencia, estado nutricional, estrés, edad, sexo.

Por parte del agente: infectividad, virulencia y otras características que le permiten producir la enfermedad.

Ya instalado el proceso, puede desarrollarse de las formas siguientes:

1. Sin que el individuo tenga signos y síntomas de la enfermedad, y todo el proceso termine sin conocer lo sucedido en la intimidad de sus tejidos. Ha ocurrido una infección.
2. La aparición de síntomas y signos, debido a las alteraciones anatómicas y funcionales que la penetración, desarrollo y multiplicación que los agentes infecciosos producen, determinan la existencia de una enfermedad infecciosa.

El término de infección no debe ser confundido con el de *infestación*; este concepto se aplica a la presencia, el alojamiento, el desarrollo y la reproducción de artrópodos en la superficie corporal de animales e incluso del hombre y su ropa. También se puede aplicar a cualquier artículo o local que albergue o sirva de alojamiento a artrópodos, roedores u otros animales.

CONTAMINACIÓN

Significa que el microorganismo está presente en objetos inanimados, la superficie de la piel y las mucosas, que pueden ser contaminadas por una gran variedad de microorganismos.

Los microorganismos comensales no causan daño, pero los parásitos pueden invadir tejidos y causar infección.

ENFERMEDAD

Es una alteración del estado de salud, caracterizada por cambios en el hospedero sin que interfiera con sus funciones normales. Por ejemplo: un trabajador de la Salud que incumple las reglas de asepsia al lavar sus manos con una herida en la piel de ellas, puede contaminarse con estafilococos; sin embargo, si no se enferma no presenta infección. Otro trabajador con una herida similar, que también incumple las reglas de asepsia, se contamina y presenta enrojecimiento e inflamación alrededor de la herida, lo cual provocó fiebre y malestar. En este caso hubo contaminación con infección y enfermedad.

INCIDENCIA DE UNA ENFERMEDAD

Es el número de individuos con la enfermedad en una población, mientras que *prevalencia* es el por ciento de individuos con la enfermedad al mismo tiempo.

Una enfermedad es *epidémica* cuando la incidencia es alta y *endémica* cuando es baja; *pandémica* se refiere a la dispersión de la enfermedad a través de los continentes.

DESARROLLO DEL PROCESO INFECCIOSO EN EL INDIVIDUO

PERÍODO DE INCUBACIÓN

Tiempo que transcurre desde la entrada y multiplicación del agente hasta la aparición de los primeros síntomas o signos de la enfermedad.

PERÍODO PRODRÓMICO

Después del período de incubación se desarrollan en el individuo síntomas inespecíficos del proceso infeccioso (fiebre, cefalea, malestar, debilidad, etc.).

PERÍODO DE ESTADO

Aquí aparecen los síntomas o signos característicos de la enfermedad.

PERÍODO FINAL O TERMINAL

Etapa final de la enfermedad, donde el enfermo puede evolucionar satisfactoriamente hasta su curación o agravarse hasta la muerte. En algunos casos puede prolongarse hasta hacerse crónica.

PERÍODO DE TRANSMISIBILIDAD

Es característico de las enfermedades transmisibles. Se extiende durante todo el tiempo que la enfermedad es capaz de transmitirse de un individuo a otro.

CADENA EPIDEMIOLÓGICA

Para que una enfermedad aparezca y se difunda deben concurrir una serie de factores o elementos, que interactuando entre sí, dan lugar a que se produzca y desarrolle la enfermedad; a este conjunto de factores esenciales se le denomina *triada ecológica*. Esta concepción es importante, porque rompiendo la cadena a nivel de cualquiera de los eslabones, se puede interrumpir la transmisión en el eslabón más débil, es decir, donde sea más económico o más rápido actuar.

Estos elementos son:

1. El agente o los agentes causales.
2. El ambiente.
3. El hospedero susceptible o individuo capaz de enfermarse.

En las enfermedades transmisibles, el agente siempre será biológico y el ambiente puede actuar como vía de transmisión.

Hay salud cuando existe un equilibrio entre los agentes y los hospederos susceptibles en un ambiente determinado. Si se rompe el equilibrio, se irá pasando al estado de enfermedad. Este proceso es dinámico y se nombra *proceso salud-enfermedad*.

En las enfermedades transmisibles se conoce como proceso infeccioso en el cual la ruptura del equilibrio se manifiesta por la llamada infección, o sea, la penetración, desarrollo

o multiplicación del agente infeccioso en el organismo de una persona o animal, que no es sinónimo de enfermedad infecciosa, pero sí el inicio de ella.

Existe un modelo epidemiológico que se representa generalmente en forma de cadena y se denomina *cadena epidemiológica o de transmisión*, en este modelo se resumen las etapas del proceso infeccioso; ellas son: agente, reservorio, puerta de salida, vía de transmisión, puerta de entrada y hospedero susceptible.

PROPIEDADES RELACIONADAS CON LA SUPERVIVENCIA EN EL MEDIO

Latencia. Es el intervalo entre el tiempo en que un patógeno es excretado y el tiempo en que puede infectar a un nuevo hospedero.

Persistencia. Es la capacidad de un patógeno de sobrevivir por un período determinado en el medio, o sea, su viabilidad. Esta propiedad es uno de los mejores indicadores de la posibilidad de que un microorganismo sea transmitido; si persiste por un corto tiempo, debe rápidamente encontrar un nuevo hospedero susceptible.

Multiplicación. Bajo ciertas condiciones los patógenos pueden multiplicarse en el medio, especialmente en alimentos, a concentraciones suficientes para provocar infección.

MÉTODOS EPIDEMIOLÓGICOS

Las tres principales técnicas epidemiológicas son: la descriptiva, la analítica y la experimental. Aunque todas pueden ser usadas en la investigación de la ocurrencia de una enfermedad, el método más utilizado es la epidemiología descriptiva.

RESUMEN

Este capítulo trata sobre los principios básicos de la epidemiología en las enfermedades transmisibles, enfatizando en conceptos importantes como son: enfermedad transmisible, enfermedad emergente y reemergente, mecanismos de transmisión de las enfermedades, sus vías, infección, infestación, contaminación, enfermedad, incidencia, prevalencia, el desarrollo del proceso infeccioso en el individuo, la cadena epidemiológica y los métodos epidemiológicos.

BIBLIOGRAFÍA

- Beaglehole R, Bonita R, Kjellstrom T. Basic epidemiology. World Health Organization. Geneva. Switzerland, 1993.
- Benenson AS. Manual para el control de las enfermedades transmisibles en el hombre. OPS. Ed. 16. Publicación Científica No. 564, 1997.
- Brachman PS. Epidemiology. Chapter 9. *In: Medical Microbiology*. 4th ed. Ed. Samuel Baron. Texas University, 1998.
- Castillo M. Epidemiología. Ciudad de La Habana: Ed. Pueblo y Educación, 1984.
- Evans AS, Brachman PS. Bacterial infections of humans. Epidemiology and Control. 2nd ed. Plenum New York, 1991.



Microscopia y coloraciones

Jorge L. Zuazo Silva

MICROSCOPIA

La microscopia es la ciencia que se ocupa de los usos y de las aplicaciones interpretativas de los microscopios, los cuales hacen posible que partículas muy pequeñas sean percibidas por el ojo humano.

La historia de la microbiología va estrechamente ligada a la de la microscopia. La aparición de las lentes, la observación de protozoos y bacterias, y el desarrollo científico-técnico en el campo de la microscopia, han ido marcando hitos de avance en el conocimiento de los organismos vivos imperceptibles por el ojo humano a simple vista.

Según Barrer, la microscopia tiene dos objetivos principales; el primero es la formación de una imagen aumentada con la menor cantidad posible de defectos ópticos y el segundo, lograr el contraste.

En este capítulo, que dedicamos a los principios básicos de la microscopia y su aplicación en los campos de la microbiología y de la parasitología médicas, expondremos algunas definiciones y conceptos fundamentales, así como describiremos ciertas técnicas de microscopia de fácil acceso, señalando sus aplicaciones, ventajas y limitaciones.

CONSIDERACIONES GENERALES

El poder de resolución de un microscopio es la distancia que debe separar a dos fuentes luminosas puntiformes, si estas se han de ver como dos imágenes distintas.

El ojo humano logra la resolución cuando el ángulo visual es lo bastante amplio para que los rayos de luz, procedentes de dos puntos distintos, encuentren diferentes elementos receptores en la retina. De este modo la distancia lineal entre objetos o poder de resolución del ojo humano desnudo es de aproximadamente 0,07 mm.

Una de las propiedades más importantes de la luz es la longitud de onda, representada por la letra griega lambda (λ). En la luz empleada para la observación microscópica, dicha propiedad está estrechamente relacionada con la resolución que puede obtenerse.

El límite de resolución (d) depende de la apertura numérica del objetivo (AN) y de la longitud de onda de la luz usada (λ), lo cual está definido por la fórmula matemática:

$$d_{\min} = \frac{\lambda}{AN}$$

Por lo tanto, la mejor resolución (" d_{\min} " más pequeña) se obtiene usando la menor longitud de onda y el lente objetivo de la mayor apertura numérica posible.

La amplificación útil de un microscopio es aquella que permite observar las más pequeñas partículas susceptibles de resolución. Es importante señalar que una mayor amplificación no daría siempre una mejor resolución de los detalles y conllevaría la reducción del área de observación, los llamados *campos microscópicos*.

MICROSCOPIOS

MICROSCOPIOS LUMINOSOS

Son los microscopios que utilizan luz visible con el fin de hacer observable un espécimen. Entre estos microscopios se encuentran:

Microscopio luminoso simple

Está compuesto por una sola lente de aumento, de gran campo, que produce una imagen vertical. Su uso está limitado por su baja AN y su resolución es de unos 10 μ m.

Estas lentes son útiles para la disección, para las mediciones y para el examen de las reacciones de aglutinación. En los laboratorios de microbiología se utilizan en los contadores de colonias, donde aparecen adaptadas a una base e iluminación apropiadas para el objetivo que se persigue con el equipo.

Algunos de los problemas que se presentan con el uso de una sola lente, como el no poder colocar el campo total dentro del foco y la presencia de anillos coloreados alrededor de los objetos observados, se resuelven en la actualidad con el uso de varias lentes combinadas.

Microscopio luminoso compuesto

Consta, por lo menos, de dos sistemas de lentes. El objetivo, de múltiples compartimentos con breves longitudes focales, que forma una diminuta imagen real invertida en el plano focal de otra lente; y la lente ocular, la cual magnifica la imagen para que el observador pueda resolverla. Estos microscopios pueden tener uno o dos lentes oculares, denominándose *microscopio monocular* o *binocular* respectivamente.

El objetivo es el determinante más importante de la calidad de la imagen producida por el microscopio y es necesario corregir en cada una de ellas una o más aberraciones o errores. Además del grado de corrección de una lente, la calidad de la imagen está determinada por su AN . Los microscopios compuestos tienen varios objetivos intercambiables, con diferentes poderes de amplificación.

El mecanismo de enfoque consta de un tornillo macrométrico, con el que se cambia rápidamente la distancia entre el objetivo y el espécimen, y de un tornillo micrométrico, para cambiar lentamente dicha distancia.

Para la microscopia en campo luminoso de gran resolución, los objetivos de inmersión ($AN=1,2$ a $1,4$) son muy útiles. El aceite que se emplea para la inmersión de estos objetivos es un líquido viscoso que no seca y es refractivamente estable, con un índice de refracción de 1,51.

El aumento total de un microscopio luminoso se calcula multiplicando el poder de aumento del objetivo por el de la lente ocular. Ejemplo: ocular (10X) y objetivo (40X): $10 \times 40 = 400$ diámetros de aumento.

Los microscopios usados en bacteriología utilizan, por lo general, los objetivos de 90 o 100 diámetros de aumento con oculares de 10 diámetros, amplificando de 900 a 1 000 veces; por lo que una partícula observada de $0,2 \mu\text{m}$ de diámetro puede ser amplificada hasta $0,2 \text{ mm}$, resultando claramente visibles.

En los microscopios luminosos el poder de resolución puede mejorarse mediante el uso de luz con longitud de onda más corta, de aproximadamente $0,2 \mu\text{m}$, que permite una resolución de partículas de $0,1 \mu\text{m}$ de diámetro.

La microscopia en campo iluminado o claro es la más usada para la observación de frotis coloreados, pero puede también emplearse para examinar características morfológicas y la movilidad de los organismos en preparaciones denominadas “gotas colgantes” o “en fresco” (suspensión del microorganismo en una gota de líquido, colocada sobre lámina portaobjeto y cubierta con lámina cubreobjeto).

Otro ejemplo de microscopio compuesto de gran utilidad en los laboratorios de microbiología y parasitología médicas, es el microscopio estereoscópico, el cual combina dos microscopios compuestos que producen imágenes separadas para cada ojo a un ángulo ligeramente diferente. Pueden contar con uno o con dos objetivos. Puede utilizarse luz reflejada o luz transmitida, pero como no tiene condensador, el tipo y la intensidad de la iluminación son factores limitantes. Estos microscopios son muy útiles para examinar las características de las colonias de bacterias, hongos, cultivos de tejidos y otros organismos parásitos.

MICROSCOPIA DE CONTRASTE DE FASES

Se fundamenta en el hecho de que las ondas luminosas que pasan a través de objetos transparentes, como las células, emergen en fases diferentes dependiendo de las propiedades de los materiales que atraviesan.

En 1934, Zernike desarrolló métodos ópticos para separar las ondas luminosas incidentes y difractadas, amplificando así la diferencia de fases entre ellas.

Un sistema óptico especial convierte esta diferencia de fase en una diferencia de intensidad; de este modo, unas estructuras aparecen más oscuras que otras.

En el microscopio de contraste de fases, el condensador tiene un diafragma anular que produce un centro luminoso hueco y el objetivo está acondicionado para acentuar los cambios de fases producidos en la muestra.

Una ventaja es la posibilidad de diferenciar las estructuras internas de células vivas, pues con el microscopio ordinario lo usual es la observación de preparaciones de materiales muertos y teñidos.

MICROSCOPIA EN CAMPO OSCURO

Se utiliza el mismo microscopio luminoso, empleando un condensador cuya apertura numérica es mayor que la del objetivo y bloquea los rayos de luz directos, así como desvía la luz de un espejo al lado del condensador en un ángulo oblicuo.

De esta manera se crea un campo oscuro que produce contraste contra los bordes destacados de los microorganismos y se origina cuando los rayos oblicuos son reflejados del borde del microorganismo hacia arriba, al objetivo del microscopio.

Como los objetos luminosos contra fondo oscuro son percibidos por el ojo más fácilmente, este tipo de iluminación para observación microscópica es útil para visualizar flagelos bacterianos y bacterias espirilares mal definidas con la microscopia de campo claro y de contraste de fase.

MICROSCOPIA POR FLUORESCENCIA

Este tipo de microscopio se basa en el principio de remoción de la iluminación incidente por absorción selectiva, transmisión de la luz absorbida por la muestra y reemitida con diferente longitud de onda.

Los compuestos capaces de absorber luz de una determinada longitud de onda y de emitir luz de mayor longitud de onda, se denominan *fluorocromos*. Las longitudes de onda absorbidas y emitidas dependen de los fluorocromos utilizados.

El rayo luminoso emitido desde la fuente pasa por un filtro de excitación que elimina las longitudes de onda que no sirvan para excitar al fluorocromo utilizado. La luz que la muestra hace fluorescente se transmite a través de un filtro de barrera que elimina del rayo a la longitud de onda incidente. De esta manera, sólo la luz que ha interactuado con la muestra con un cambio de longitud de onda, contribuye a la intensidad en el plano de la imagen.

Diferentes fluorocromos son empleados en la práctica, entre los cuales podemos mencionar la auramina y la naranja de acridina, de uso en la tinción directa de microorganismos. En los laboratorios de microbiología médica se utilizan para la detección de microorganismos en hemocultivos y para la observación de bacilos acidorresistentes en frotis.

Otros fluorocromos, tales como isotiocianato de fluoresceína, pueden ser conjugados a anticuerpos y se emplean en los laboratorios en técnicas conocidas como inmunofluorescencia, que nos permiten, con una alta sensibilidad y especificidad, localizar antígenos en una muestra dada. Dos técnicas básicas de inmunofluorescencia son usadas en microscopía: directa e indirecta.

Con la técnica *directa*, la muestra en estudio se fija a una lámina portaobjeto y se le adiciona un anticuerpo conjugado con isotiocianato de fluoresceína. Si el antígeno correspondiente se encuentra presente en la muestra, el anticuerpo se le une. La lámina se observa al microscopio por fluorescencia y el fluorocromo unido a la inmunoglobulina y a su antígeno, emite luz de una longitud de onda visible. El observador la percibe con un color brillante en intenso contraste con los no coloreados y con el fondo de la preparación.

La inmunofluorescencia directa es muy utilizada en los laboratorios para identificar, de manera relativamente rápida, antígenos virales en células de especímenes clínicos (virus respiratorios, herpesvirus, etc.), y para el diagnóstico de otros agentes microbianos tales como: *Bordetella pertussis*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus pyogenes*, *Francisella tularensis*, *Chlamydia trachomatis*, *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia*, por citar algunos.

Las técnicas de inmunofluorescencia *indirecta* (IFA) se basan en tener un colorante fluorescente conjugado a un anticuerpo secundario (anticuerpo antiinmunoglobulina). El antígeno se puede encontrar en la muestra fijada sobre la lámina portaobjeto sobre la cual se hace reaccionar un anticuerpo conocido dirigido a localizar los antígenos en la muestra.

Después de realizar un lavado con el fin de remover el anticuerpo no fijado, se adiciona el conjugado formado por el anticuerpo antiinmunoglobulina y la fluoresceína, el que se une al anticuerpo primario (inmunoglobulina) si está presente.

El complejo formado por el antígeno, el anticuerpo primario y el anticuerpo secundario conjugado, puede ser visualizado de la misma manera que en el método de inmunofluorescencia directa.

Entre las ventajas de la técnica indirecta se encuentran: su mayor sensibilidad, la posibilidad de utilizar el anticuerpo secundario conjugado para la detección de diferentes anticuerpos primarios y la probabilidad de poder cambiar la especificidad del anticuerpo secundario para detectar la clase de anticuerpo que está presente en una muestra. La desventaja es que su proceder técnico lleva varios pasos, los cuales la hacen un poco más larga que la prueba directa y al igual que esta, requiere personal técnico bien adiestrado.

MICROSCOPIO ELECTRÓNICO

El microscopio electrónico ha hecho posible resolver el detalle celular a nivel molecular y ha permitido a los científicos poder observar las estructuras detalladas de las células procariótica y eucariótica. En el campo de la virología ha constituido un instrumento muy valioso, pues permitió la observación y la identificación de virus.

Este microscopio usa una corriente de electrones en lugar de rayos luminosos para producir la imagen magnificada de un objeto, lo cual le confiere una mayor resolución, debido a que los electrones tienen una longitud de onda mucho más corta que los fotones de la luz blanca.

Electrones acelerados en un campo eléctrico están asociados con longitudes de ondas cortas. Por ejemplo, electrones acelerados en un campo de 100 kV tienen longitudes de onda de aproximadamente 0,004 nm.

Una explicación muy detallada de la microscopía electrónica escapa al alcance y objetivos de este capítulo, por lo que señalaremos algunos principios generales y su aplicación en la microbiología.

El microscopio electrónico de transmisión (MET) tiene muchas características en común con el microscopio luminoso. Fue el primero de los microscopios electrónicos y emplea un rayo de electrones, dirigido o enfocado por un lente condensador electromagnético sobre una muestra delgada. Al chocar los electrones con la muestra, se diseminan de manera diferencial, algunos pasan a través de la muestra y se reúnen y enfocan mediante lentes objetivos electromagnéticos que presentan una imagen de la muestra al sistema de lentes proyectores, para una amplificación posterior. La imagen se visualiza permitiendo que caiga en una pantalla que fluoresce cuando recibe el impacto de los electrones. Tiene un gran poder de resolución, permite la observación de partículas separadas por 0,001 μ m, con diámetros entre 0,001 y 0,2 μ m.

En el microscopio electrónico de barrido (MEB), los electrones se enfocan mediante lentes en un punto muy fino y su interacción con la muestra libera diferentes tipos de radiaciones (electrones secundarios) de la superficie del material, que son capturadas por un detector, amplificadas y luego transformadas en imágenes en una pantalla de televisión. Este microscopio tiene un poder de resolución más bajo que el MET y resulta muy útil para la observación tridimensional de objetos microscópicos.

Las técnicas convencionales más usadas en la microscopía electrónica son: la tinción negativa, la microtomía y la congelación. La tinción negativa ha tenido amplia aplicación en el estudio de las macromoléculas, virus y organelas bacterianas. Los otros dos métodos ofrecen información sobre la morfología de las subunidades de las estructuras celulares y se han usado con éxito en el estudio de los antibióticos y su acción sobre las membranas de las bacterias y los hongos.

Una técnica importante en la microscopía electrónica es el uso del “sombreado”, consistente en el depósito de una capa delgada de metal pesado sobre la muestra, la que se coloca en la vía del rayo de iones metálicos, en un vacío. Al obtener una impresión positiva de una imagen negativa, se logra un efecto tridimensional.

AUTORRADIOGRAFÍA

Se trata de un procedimiento que tiene gran utilidad para el estudio de la replicación del ADN, que emplea timidina marcada con tritio como trazador específico en el seguimiento del proceso de replicación.

El método se basa en fijar en una lámina portaobjeto, las células a las que se han incorporado átomos radiactivos, se cubren con emulsión fotográfica y se almacenan en la oscuridad por un período dado. En la película revelada aparecen huellas que emanan de los sitios de desintegración radiactiva.

Si las células son marcadas con un emisor débil como el tritio, las huellas resultan lo suficientemente breves como para mostrar la posición del marcador radiactivo en la célula.

Con el mismo principio del método se ha usado sondas de ácido nucleico marcado, conocido como hibridación *in situ*, y que resulta útil para detectar la presencia de ácido nucleico viral, bacteriano y micótico en células y tejidos.

COLORACIONES

Un colorante biológico es una molécula que es capaz de unirse a una estructura de la célula y darle color. Los colorantes se emplean también en la constitución de los medios de cultivo, como indicadores o como inhibidores.

En microbiología, las coloraciones tienen diferentes objetivos: demostrar los microorganismos y algunas otras células en diferentes especímenes; poner de manifiesto algunas características morfológicas y estructuras microbianas tales como: esporas, flagelos, gránulos, cápsulas, etc., y diferenciar los microorganismos según su comportamiento tintorial.

Los colorantes que se extraen de productos vegetales o animales se denominan *colorantes naturales*, entre los que se encuentran: el carmín, el tornasol, el índigo y la hematoxilina. Otros, como los extraídos del alquitrán de hulla, son anilinas sintéticas. En la actualidad, el término colorante de anilina se está abandonando porque muchos de los colorantes sintéticos en uso, no derivan de la anilina.

Los ácidos y las bases libres son, en general, poco solubles, por lo que en microbiología se utilizan casi exclusivamente las sales de los ácidos y de las bases colorantes. Los llamados *colorantes básicos* contienen un catión coloreado unido a un anión incoloro y los *ácidos* constan de un catión incoloro unido a un anión coloreado.

Los básicos son los más usados en bacteriología, debido a que las bacterias, ricas en ácidos nucleicos, portan cargas negativas en forma de grupos fosfatos, los que se combinan con los colorantes cargados positivamente.

Entre los colorantes básicos, los más empleados son: tionina, azul de toluidina, azul de metileno, fucsina, violeta cristal, violeta de genciana, verde metilo, safranina y verde de malaquita. Entre los ácidos podemos citar: naranja G, ácido pícrico, fucsina ácida y eosina.

Los colorantes ácidos se utilizan en técnicas especiales, coloraciones negativas o en métodos para estudiar algunas estructuras bacterianas, fundamentalmente citoplasmáticas.

Existe un grupo de sustancias, cuya base y ácido tienen carácter colorante, y son denominadas *colorantes neutros*. Entre ellos se encuentra el grupo de los eosinatos: eosinato de azul de metileno, de azul de toluidina, de violeta de metilo.

El primer paso de cualquier coloración es la preparación del frotis, el que puede realizarse a partir de las colonias, de cultivos en caldo y de las muestras o productos patológicos que se examinan.

En la preparación de los frotis es necesario seguir el método establecido, cuyos pasos fundamentales consisten en extender el material sobre la lámina portaobjeto, secar al aire o con ligero calor y fijar con calor. Algunos frotis pueden fijarse con metanol, alcohol absoluto o cloroformo.

El frotis debe ser preparado de manera tal que al realizar la observación microscópica, los microorganismos se encuentren con la separación adecuada que permita la óptima visualización de cada uno, lo que se logra al hacer una preparación cuidadosa, que no sea demasiado gruesa, evitando las masas de microorganismos.

El objeto de toda coloración es fijar el colorante sobre la materia a teñir con una intensidad tal que un lavado con el solvente que sirvió para preparar el baño de tintura, no la decolore.

Las soluciones colorantes que se emplean en bacteriología son, en general, acuosas. Cuando los microorganismos se tiñen por simple inmersión en el baño colorante, se denominan *coloraciones directas*, y cuando se tiñen tras la acción de un mordiente, se nombran *coloraciones indirectas o por aplicación de un mordiente*.

Las coloraciones simples utilizan una sola sustancia colorante. En las coloraciones diferenciales, combinadas o compuestas se hacen actuar simultánea o sucesivamente varios colorantes con el fin de demostrar diferencias entre las estructuras de las células. En microbiología médica se usan con mucha frecuencia dos métodos de coloraciones compuestas o diferenciales, la coloración de Gram y la coloración de Ziehl-Neelsen.

COLORACIONES SIMPLES

Usan un solo colorante, no distinguen por lo tanto, organismos ni estructuras con reacciones tintoriales diferentes. Se emplean para la observación del tamaño, forma y agrupación de las células.

El proceder consiste en dejar actuar, durante un tiempo, la solución colorante sobre el frotis. Los colorantes más empleados son: azul de metileno, fucsina diluida, tionina fenicada, azul de toluidina, safranina y cristal violeta.

COLORACIONES COMPUESTAS O DIFERENCIALES

Coloración de Gram

En 1884, Hans Christian Gram desarrolló un método de tinción bacteriana que coloreaba algunas células de color azul-violeta y otras que se decoloraban, se teñían con el color de la solución colorante empleada como contraste.

En el procedimiento para la coloración de Gram se usan cuatro reactivos diferentes. El primero es una solución de cristal violeta (cloruro de hexametil-p-rosanalina), que tiñe todas las células de color azul-violeta.

El segundo reactivo es una solución de Lugol (yodo-yoduro de potasio). El yoduro reemplaza al cloruro en la molécula de cristal violeta y el complejo formado se vuelve insoluble en agua. Todas las células reaccionan de igual forma.

La adición de un tercer reactivo, decolorante (acetona y etanol), remueve solamente el colorante de las células gramnegativas. Con el fin de explicar esta manera de actuar se han planteado diversas causas, entre ellas, diferentes uniones al magnesio, a las ribonucleasas o al ácido nucleico. También se señalan diferencias en la permeabilidad, que sugiere que el alcohol decolora la membrana externa de las bacterias gramnegativas, las cuales permiten la salida del complejo cristal violeta-Lugol.

La safranina, colorante de contraste y cuarto reactivo empleado en el método, hace visible las células gramnegativas al teñirlas de color rojo.

Se ha demostrado que la estructura de la pared bacteriana es la base de la reacción diferencial frente a la coloración de Gram. Las bacterias teñidas de azul-violeta, llamadas grampositivas, poseen grandes cantidades de ácido teicoico en sus paredes celulares; y las teñidas en rojo, bacterias gramnegativas, contienen lipopolisacáridos.

Se han descrito diferentes modificaciones al método original de Gram, entre las que podemos citar:

La modificación de Hucker, que recomienda la utilización de una solución de cristal violeta en lugar de la violeta genciana empleada por Gram.

Otra modificación es la que emplea carbolfucsina como colorante de contraste y se recomienda para el estudio de bacilos anaerobios gramnegativos y de las especies del género *Legionella*.

La modificación de Kopeloff se recomienda para una mejor visualización de las bacterias anaerobias y consiste en adicionar a la solución de cristal violeta, colocada sobre el frotis, unas gotas de una disolución de NaHCO_3 al 5 %.

COLORACIÓN DE MICROORGANISMOS ACIDORRESISTENTES

Las especies del género *Mycobacterium*, las nocardias, algunos actinomicetos y los criptosporidios, retienen los colorantes aun después de los procesos de decoloración con ácidos, o con soluciones de ácido-alcohol o ácido-acetona, por lo que son denominados *microorganismos acidorresistentes*.

Dicho carácter es atribuido a un componente lipídico (ácido micólico) en las paredes bacterianas de las especies del género *Mycobacterium* y otros organismos relacionados. En el caso de los criptosporidios y de las endosporas se le atribuye a factores de impermeabilidad.

Los componentes y factores antes mencionados hacen más difícil la penetración del colorante en la célula microbiana, por lo que los procedimientos para estas coloraciones necesitan de la ayuda del calor, de solventes orgánicos o de detergentes.

Entre los métodos de coloración para demostrar la acidorresistencia se encuentran el método de Ziehl-Neelsen, el de Kinyoun y el que utiliza colorantes de fluorocromo; en este último es necesaria la observación en un microscopio de fluorescencia.

La coloración de Ziehl-Neelsen es una modificación de un método descrito por Paul Ehrlich en 1882 y consiste en cubrir el frotis con una solución de carbolfucsina que se calienta hasta que emita vapores, se decolora con alcohol-ácido (ácido clorhídrico al 3 % en

etanol) y finalmente se aplica un colorante de contraste, azul o verde (azul de metileno de Löffler o verde de malaquita).

Los microorganismos que retienen el color rojo del primer colorante son los acidorresistentes y los que no los retienen, son los no acidorresistentes, y toman el color del colorante de contraste.

La coloración de Kinyoun no requiere la aplicación del calor y utiliza colorantes similares al método de Ziehl-Neelsen.

El método que aplica rodamina-auramina no utiliza el calor y emplea como colorante de contraste una solución de permanganato de potasio o de naranja de acridina.

COLORACIONES NEGATIVAS

Son coloraciones que se emplean fundamentalmente para la observación de estructuras bacterianas que se tiñen con dificultad con otros métodos.

Se fundamenta en hacer resaltar las células sin teñir, sobre un fondo teñido; para lograrlo se utiliza tinta china o colorantes ácidos (ejemplo: la nigrosina).

COLORACIONES PARA DEMOSTRAR ESTRUCTURAS DE LOS MICROORGANISMOS

Coloración de cápsulas

Los métodos más usados para poner de manifiesto las cápsulas bacterianas son las coloraciones negativas o sus modificaciones. Un método de tinción de la cápsula es el que trata las bacterias con una solución caliente de cristal violeta seguido por un lavado con solución de sulfato de cobre, con el fin de remover el exceso de colorante, ya que el lavado con agua disolvería la cápsula. El sulfato de cobre también imparte color al fondo.

A la observación microscópica, la célula y el fondo aparecen teñidos en color azul oscuro y la cápsula de color azul pálido.

La coloración de Anthony-Hiss emplea las mismas soluciones colorantes antes descritas, pero en el momento de realizar el frotis, los microorganismos se suspenden en un líquido proteico (leche, suero). Después de la aplicación de los colorantes, el cristal violeta se fija a la proteína y destaca la cápsula de la célula; el sulfato de cobre tiñe la cápsula.

Coloración de flagelos

Cuando los flagelos se tratan con suspensiones coloidales inestables de sales de ácido tánico, pueden ponerse de manifiesto y conocerse su disposición en la célula.

El fundamento del método está dado por la formación de un grueso precipitado que se deposita sobre la pared celular y los flagelos, aumentando el diámetro de los mismos, de manera tal que al aplicar fucsina básica se hacen visibles en el microscopio óptico (coloración de Leifson).

El método de Leifson fue modificado por Ryu y utiliza el cristal violeta en lugar de la fucsina, que hace más estables los reactivos a la temperatura ambiente.

Otro método para la coloración de estas estructuras es la coloración con plata, que emplea, entre otras, una solución de nitrato de plata y aplicación de calor. Los flagelos se visualizan al microscopio como líneas oscuras.

En los casos de bacterias con muchos flagelos, se pueden agrupar en haces durante el movimiento y es posible observarlos al estudiar la célula viva mediante la microscopía de campo oscuro o de contraste de fases.

Coloración de esporas

En observaciones microscópicas de preparaciones de bacterias sin teñir, las esporas se observan como cuerpos refringentes intracelulares y si las células bacterianas están teñidas con los métodos habituales, se aprecian como zonas incoloras en su interior.

Para la tinción de las esporas, habitualmente se utiliza el carbolfucsina o el verde de malaquita. El primero, en el método de Ziehl-Neelsen ya descrito, y el segundo, en el método de Schaeffer-Fulton. En el método de Moeller se aplican los mismos colorantes que en el procedimiento de Ziehl-Neelsen, pero se fija el frotis con alcohol absoluto y cloroformo. Por la impermeabilidad de la pared de la espora se requiere calentar la preparación con el fin de que el colorante penetre.

Al emplear suficiente cantidad de alcohol que permita la decoloración de la célula vegetativa, la impermeabilidad de la pared no permite la decoloración de la espora.

En los métodos de tinción de las esporas antes señalados, se utilizan colorantes de contraste para la célula vegetativa. Cuando teñimos la espora con verde de malaquita, utilizamos safranina como colorante de contraste; y cuando la espora se tiñe con carbolfucsina, la célula vegetativa se tiñe con azul de metileno.

Coloraciones de gránulos metacromáticos

Los gránulos de volutina en el interior del citoplasma bacteriano, constituyen una fuente de adenosina trifosfato (ATP) y tienen la característica de ser gránulos metacromáticos, o sea, que aparecen teñidos de diferente color al resto de la célula. Se tiñen intensamente con los colorantes de anilina.

Se han descrito diferentes métodos de coloración para ponerlos de manifiesto, entre ellos: la coloración de Albert, la modificación de Christensen, la coloración de Neisser y las coloraciones de azul de metileno para gránulos y bacterias, así como la coloración con azul de metileno alcalino.

Coloración de núcleo

Los núcleos se pueden teñir con los colorantes específicos para ADN. Ejemplo: coloración de Feulgen.

OTRAS COLORACIONES UTILIZADAS EN MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA MÉDICAS

Los métodos citados a continuación y otros, serán tratados en los capítulos correspondientes a cada uno de los microorganismos:

En bacteriología

Naranja de acridina. Se emplea para distinguir entre las bacterias y las células humanas, como en el caso de la sangre y el líquido cefalorraquídeo. También puede usarse para la tinción de *Mycoplasma* sp. y de algunos parásitos.

Coloración de Brown-Hopes-Gram. Recomendada para distinguir bacterias en cortes de tejidos.

Coloración de Warthin-Stary. Se emplea para la observación de espiroquetas y en la tinción de biopsias de tejidos para la detección de rickettsias.

Coloraciones de Giemsa, Machiavello y Castañeda. Permiten la detección de rickettsias con el empleo del microscopio luminoso.

Las clamidias, que tienen propiedades tintoriales similares a las rickettsias, son detectadas mediante las coloraciones de Giemsa y Machiavello.

En micología

Lactofenol azul de algodón. Para la detección de elementos de los hongos.

Coloración de Schiff. Ácido periódico, de gran aplicación en la detección de células levaduriformes y de hifas de hongos en tejidos.

Coloraciones de Giemsa y de Wright. Muy usadas para la identificación de *Histoplasma capsulatum*.

Coloración rápida de Gomori (metenamina-nitrato de plata). Se emplea en la observación de hongos. De gran utilidad en la histopatología de las lesiones producidas por hongos (ejemplo: micetomas) y en la detección de *Pneumocystis carinii*.

El empleo del fluorocromo calcoflúor blanco facilita la visualización de estructuras fúngicas al ser observadas al microscopio de fluorescencia. De gran utilidad en la detección de *Pneumocystis carinii*.

En parasitología

La modificación de Wheatley de la coloración tricrómica de Gomori y el uso de hematoxilina férrica en el examen de las heces fecales; las coloraciones de Giemsa, de Wright, de Field, de Leishman y de hematoxilina de Delafield, en la detección de parásitos de la sangre.

En virología

Inmunofluorescencia directa e indirecta y coloraciones para la detección de cuerpos de inclusión que, por lo general, muestran afinidad por los colorantes ácidos como la eosina.

RESUMEN

Se describen diferentes tipos de técnicas microscópicas ópticas y electrónicas, indicando sus ventajas y limitaciones, señalando su aplicación en los laboratorios de microbiología y parasitología médicas. Se presentan consideraciones generales sobre los métodos de coloración de los microorganismos y los colorantes más usados. Se analiza la utilidad de diferentes métodos de coloraciones empleados en los laboratorios de microbiología y parasitología médicas, con énfasis en fundamentos, usos y modificaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Black JG. Microbiology. Principles and Applications. 3ra ed. Chap. 3. New Jersey, EUA: Prentice-Hall International, 1996:74-107.
- Clarridge JE, Mullins JM. Microscopy and Staining. In: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF, Weissfeld AS, Tilton RC. Clinical and Pathogenic Microbiology. 2nd ed. Part I. Chap. 6. St. Louis MO. EUA: Mosby-Year Book, Inc, 1994:101-15.
- Douglas SD. Microscopia. En: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ (h), Truant JP (eds.). Microbiología clínica. 3ra ed. en español. Cap. 2. Cuba: Ed. Científico-Técnica, 1982:26-33.
- Jaulmes Ch, Jude A, Quérangal J, Delga J. Práctica de laboratorio. ed. en español. Cap. I. España: Toray-Masson SA; 1968:11-22.
- Morse SA. Estructura celular. En: Brooks GF, Butel JS, Ornston LN, Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 15ta ed. en español. Cap. 2. México D.F.: Ed. El Manual Moderno, 1996:9-39.
- Murray PR. Pocket guide to clinical microbiology. 2nd ed. EUA: American Society for Microbiology, 1998.
- Sonnenwirth AC. Colorantes y procedimientos de coloración. En: Sonnenwirth AC, Jarret L (eds.). Gradwohl Métodos y Diagnósticos del Laboratorio Clínico, ed. en español. Cap. 71. La Habana, Cuba: Ed. Científico-Técnica, 1983:1265-78.

A graphic featuring a circular, textured background with a light yellow and blue pattern. The word "Capítulo" is written in a purple, serif font at the top, and the number "5" is written in a larger, purple, serif font below it. A horizontal line extends from the right side of the circle.

Características de las células procarióticas y eucarióticas

Jorge L. Zuazo Silva

INTRODUCCIÓN

La célula es la unidad estructural y funcional de todo ser vivo y posee una organización molecular que le permite desempeñar las funciones vitales: crecer, reproducirse y adaptarse al medio ambiente.

Las células vivas pueden ser clasificadas como eucarióticas o procarióticas, con algunas estructuras similares y otras que las diferencian. Entre las semejanzas podemos citar que ambas poseen membrana celular o membrana citoplasmática y ADN para la codificación de sus informaciones genéticas. Las características que difieren hacen a la célula procariótica mucho más simple que la eucariótica, en cualquier nivel estructural, excepto en la pared celular que es mucho más compleja. Las bacterias constituyen el prototipo de los procariotas, e iniciaremos este capítulo con el estudio de la estructura celular bacteriana y sus funciones.

CÉLULA PROCARIÓTICA

La célula bacteriana (procariótica) está estructurada de la siguiente manera: la membrana celular rodeada de una pared celular; hacia el interior de la célula un citoplasma con ribosomas y una región nuclear (nucleoide); y la presencia, en algunos casos, de gránulos, vesículas o ambos. Como estructuras externas podemos mencionar los flagelos, las fimbrias y la cápsula.

PARED CELULAR

De manera general, las bacterias se desarrollan en medios hipotónicos y debido a la fragilidad de la membrana citoplasmática correrían el riesgo de la lisis celular si no fuera por la presencia de una pared celular rígida, siendo, por lo tanto, la protección osmótica, una de sus funciones.

Esta pared es también la responsable del mantenimiento de la forma de las bacterias y del comportamiento de las mismas frente a la coloración de Gram.

Desempeña, además, un papel importante en la división celular e interviene en su propia biosíntesis. Diferentes capas de la pared celular son sitios de determinantes antigénicos de la superficie bacteriana.

Está constituida por:

1. Peptidoglucano (mucopéptido o mureína). Es un heteropolímero rígido e insoluble en agua, constituido por un soporte formado por N-acetilglucosamina y ácido N-acetil-murámico alternantes, con cadenas laterales tetrapeptídicas idénticas, fijadas al ácido N-acetil-murámico y un conjunto de puentes peptídicos transversos idénticos.
El soporte es el mismo en todas las especies bacterianas, pero las cadenas tetrapeptídicas laterales y los puentes peptídicos transversos varían entre las especies bacterianas. Como se ha dicho anteriormente, las paredes de las bacterias grampositivas y gramnegativas son diferentes química y ultraestructuralmente.
2. Además del peptidoglucano, constituyente universal de los procariotas, otras macromoléculas intervienen en la arquitectura de las bacterias grampositivas. Contienen considerables cantidades de ácidos teicoicos que son polímeros solubles en agua, constituidos por residuos de ribitol o glicerol unidos por enlaces fosfodiésteres. La mayor parte del ácido teicoico se encuentra entre la membrana citoplasmática y la envoltura del peptidoglucano. Fijan el ion magnesio e intervienen en el suministro de este ion a la célula.

Una pequeña cantidad de ácidos teicoicos que contienen glicerol, está unida a glucolípidos de la capa exterior de la membrana citoplasmática de la bacteria y se denominan *ácidos lipoteicoicos*, los cuales atraviesan la pared celular y constituyen antígenos de superficie de las especies bacterianas que los poseen. Se comportan, además, como sitios receptores de los fagos de las bacterias grampositivas.

Debido al hallazgo de azúcares neutros en las paredes de ciertas especies de bacterias grampositivas, se ha pensado que ellos se encuentren como subunidades de polisacáridos o formen parte de los ácidos teicoicos, pues se ha descubierto que estos pueden contener numerosos azúcares.

Al producirse la remoción de las paredes de las bacterias grampositivas (mediante hidrólisis con lisozima o mediante la inhibición de la síntesis del peptidoglucano), y encontrándose en medios osmóticos protectores, se da paso a la formación de los protoplastos.

Las paredes de las bacterias gramnegativas son más finas pero más complejas que las paredes de las grampositivas. Presentan por fuera del peptidoglucano las siguientes estructuras: lipoproteína, membrana exterior (constituida por un conjunto de proteínas específicas empotradas en una matriz de fosfolípidos) y lipopolisacáridos.

Las moléculas de lipoproteína de la pared bacteriana fueron descritas por primera vez por Braun, en cepas de *Escherichia coli*, por lo cual se les denomina *lipoproteínas de Braun*. Tienen un alto peso molecular (P.M. de 7 800 Da) y existen en elevado número en la célula. Entrecruzan la membrana exterior con las envolturas del peptidoglucano. Su principal función es estructural, estabilizadora de la arquitectura de la envoltura bacteriana.

La membrana exterior es una doble capa de fosfolípidos en la cual una parte de estos, pertenecientes a la capa más externa, han sido sustituidos por moléculas de lipopolisacáridos. La membrana exterior tiene una composición fosfolípida semejante a la de la membrana citoplasmática.

La membrana exterior de las bacterias gramnegativas contiene una gran cantidad de proteínas, siendo las más significativas: porinas, proteínas OmpA, proteínas que participan en la difusión de compuestos a través de la membrana exterior y enzimas (fosfolipasa A, proteasas).

Las *porinas* llevan esta denominación porque se organizan en los poros o canales hidrofílicos y permiten el paso a través de la membrana exterior de las bacterias esféricas a compuestos hidrofílicos con P.M. inferior a 600-650 Da.

Otro grupo de proteínas formadoras de poros, por ejemplo: LamB y Tsx, muestran gran especificidad; la primera es la receptora para el bacteriófago lambda y la segunda, para el

bacteriófago T6, a la vez que intervienen en la difusión de determinadas sustancias a través de la membrana.

Un grupo de *proteínas mayores no porínicas* (ejemplo: OmpA), cuyos monómeros tienen un P.M. de 35 000 Da, participa en la fijación de la membrana externa a la capa de peptidoglucano y se comportan como receptoras del pili sexual en la conjugación bacteriana mediada por el pili F.

La membrana exterior contiene también las denominadas *proteínas menores*, las cuales poseen diferentes funciones, tales como el transporte de pequeñas moléculas como la vitamina B₁₂ y los sideróforos con hem siderina.

Además de las funciones antes señaladas para las proteínas de la membrana exterior, se señala que participan también en la replicación del ADN y en la división celular. Debido al hecho de servir como barreras a la difusión de moléculas grandes, se le atribuye en parte la gran resistencia de las bacterias gramnegativas a muchos antibióticos.

Los lipopolisacáridos (LPS) constituyen la molécula más característica de las bacterias gramnegativas y son la principal endotoxina bacteriana, considerados así por su alta toxicidad para los animales y por estar firmemente unidos a la superficie celular, siendo sólo liberados cuando las células son lisadas. Consisten en un complejo lipídico denominado lípido A, al cual se fija un polisacárido constituido por un centro y una serie terminal de unidades repetidoras. El LPS está fijado a la membrana exterior por enlaces hidrófobos. La toxicidad está fundamentalmente ligada al lípido A y el polisacárido representa un antígeno de superficie.

Si la remoción de las paredes celulares señaladas para las bacterias grampositivas se llevara a cabo en las bacterias gramnegativas, se formarían los esferoplastos, que retienen la membrana externa de estas células.

Aunque en la actualidad hay una tendencia a denominar *protoplastos* a todas las células procarióticas mantenidas en un medio osmóticamente protegido, después de una remoción completa de la pared celular; y *esferoplastos* cuando resultan de una remoción parcial de la pared celular.

Si los esferoplastos y los protoplastos bacterianos son capaces de crecer y dividirse, se denominan *formas L* (Lister), las cuales son difíciles de cultivar y requieren de medios sólidos que tengan la presión osmótica debida. Algunas formas L son capaces de revertir a su ancestro bacteriano después de eliminar el estímulo inductor, sin embargo, otras son estables y no revierten. Algunas formas L se producen espontáneamente.

La formación de estas formas L tiene gran importancia en microbiología médica, pues pueden producir infecciones crónicas al ser secuestrados los microorganismos en regiones protectoras del organismo humano, así como la producción de recaídas por la reversión a la forma bacteriana ancestral. Se presentan, además, problemas en la quimioterapia, al hacerse resistentes a algunos tratamientos con quimioterapéuticos cuyos mecanismos de acción recaen sobre la pared del microorganismo.

MEMBRANA CITOPLÁSMICA

Esta estructura bacteriana, también conocida como membrana celular, rodea al citoplasma y es, por lo tanto, una barrera entre el exterior y el interior de la célula. Con una espesura de 5-10 nm, su estructura es similar a la que presentan las membranas de todas las células vivas; está constituida por una doble capa de fosfolípidos donde se insertan proteínas y se asocian proteínas periféricas. Las membranas de los procariotas se diferencian de las membranas de las células eucarióticas por la ausencia de esteroides, salvo en los micoplasmas, los cuales los incorporan a sus membranas al crecer en medios ricos en esteroides.

La principal función de la membrana celular es regular el movimiento de material hacia el interior y el exterior de la célula mediante los mecanismos de permeabilidad selectiva, generalmente permeable a moléculas lipófilas e impermeable a moléculas hidrófilas. Por medio del transporte activo de solutos también realiza esta función reguladora. Los sistemas enzimáticos presentes facilitan la difusión pasiva de solutos específicos y a la vez catalizan el transporte activo.

Las invaginaciones de la membrana citoplásmica denominadas *mesosomas* son estructuras especializadas, de los cuales se describen dos tipos con diversas funciones: los

mesosomas de tabique, que funcionan en la formación de paredes transversas durante la división celular; y los *mesosomas laterales*, donde los citocromos y otras enzimas de la cadena respiratoria se encuentran concentrados. Se puede señalar, por lo tanto, como función importante de la membrana citoplásmica de los procariotas, el transporte de electrones y la fosforilación oxidativa.

La membrana citoplásmica procariótica lleva a cabo, también, funciones de biosíntesis (síntesis de la pared celular) y de sistemas quimiotácticos.

Las zonas de adhesión de las membranas constituyen receptores de los fagos y una vía de entrada de compuestos que la célula bacteriana utilizará en su metabolismo.

ESTRUCTURAS EXTERNAS

Cápsula y estructuras análogas

Algunas especies bacterianas son capaces de sintetizar grandes cantidades de polímeros extracelulares, los cuales forman un condensado organizado, en forma de capa bien definida que rodea a la pared celular, nombrado *cápsula*.

Esta estructura es, generalmente, de naturaleza polisacárida, pero puede estar constituida por polipéptidos, como aparece en los *Bacillus anthracis*. Las bacterias capsuladas son a menudo más virulentas para el hombre dadas las propiedades antifagocitarias de las cápsulas, salvo cuando estas están recubiertas de anticuerpos anticapsulares y, además, más protegidas contra la desecación.

Cuando los polímeros forman una maraña de fibras que se extiende fuera de la célula, se denomina *glicocálix* y tiene un papel importante en la adherencia de la bacteria a otras superficies celulares, incluyendo las células de sus hospederos. Los polímeros pueden presentarse en masas no organizadas, como una estructura difusa de superficie, que aparentemente están separados de las células, pero pueden atraparlas; por lo general son más finos que la cápsula y se les llama “envoltura mucoide” (*slime layer*). Su función es aún motivo de discusión, pero diferentes autores le atribuyen un mecanismo protector contra la desecación de la célula, que contribuye a acercar nutrientes a esta y algunas veces adhiere las bacterias a otras estructuras que se encuentran en su medio.

Flagelos

Una gran parte de las bacterias conocidas son móviles y en la mayoría de estas, dicha función está dada por la presencia de unos apéndices filiformes, de origen endocelular, que se proyectan hacia el exterior de la célula y se denominan *flagelos*.

Los flagelos bacterianos miden de 12 a 30 nm de diámetro y están constituidos por subunidades proteicas denominadas *flagelina* que se autoorganizan por asociación y forman la estructura flagelar hueca.

El flagelo se inserta en el cuerpo de la bacteria mediante una estructura que presenta un gancho y un cuerpo basal, el cual porta una serie de anillos. En el caso de las bacterias gramnegativas, un par de anillos se localiza en la membrana celular y otro par en la pared celular. Las bacterias grampositivas presentan un anillo en la membrana celular y otro en la pared bacteriana.

La disposición de los flagelos en la célula bacteriana tiene un significado taxonómico y se denominan: *bacterias monótricas*, cuando presentan un solo flagelo polar; *lofótricas*, cuando poseen mechones de flagelos polares; y *perítricas*, cuando la ubicación de los flagelos es alrededor de toda la célula. Algunos autores llaman *anfítricas* a aquellas bacterias que presentan un flagelo en cada extremidad de la célula.

Se han descrito otros procesos de locomoción bacteriana, entre los que podemos citar: el movimiento de las espiroquetas debido a la contractura de un conjunto de fibras situadas en el periplasma bacteriano y denominado *filamento axial*. Se han descrito también movimientos originados en las bacterias por la propiedad de la quimiotaxis y de la fototaxis.

Existen algunos movimientos bacterianos, no bien esclarecidos, como es el movimiento deslizando que producen las mixobacterias y las cianobacterias en medios de cultivo sólidos.

Pili o fimbrias

Son apéndices rígidos de la superficie bacteriana, más cortos y finos que los flagelos bacterianos. Están constituidos por subunidades proteicas denominadas *pilina*.

Se diferencian dos tipos de pili: el pili sexual, que media en el contacto entre bacterias de “sexos” diferentes, F⁺ y F⁻, y permite, durante el proceso de recombinación genética denominado *conjugación*, la aproximación de las dos células. El otro tipo de pili (adhesinas) es el que interviene en la adherencia de la célula bacteriana a las células del hospedero, las cuales al reconocer receptores celulares de superficie, facilitan la colonización e infección de las mucosas y epitelios.

Actualmente se describen antígenos de superficie situados en los pili de diferentes especies bacterianas.

ESTRUCTURAS INTERNAS

Citoplasma

Debido a que las células procarióticas tienen muy pocas estructuras internas claramente definidas, tales como cromosoma y algunos ribosomas, la mayor parte del contenido celular situado en el interior de la membrana celular está constituido por una sustancia semifluida denominada *citoplasma*.

El citoplasma tiene un alto contenido en agua y diversas sustancias (enzimas, carbohidratos, lípidos, otras proteínas y sustancias inorgánicas) suspendidas en ella.

Diferentes reacciones químicas, anabólicas y metabólicas tienen lugar en el citoplasma bacteriano.

Nucleoide

Como ya hemos señalado, una de las características de la célula procariótica es la ausencia de un núcleo verdadero, encontrándose en su lugar el nucleoide o región nuclear, que es la zona de la célula donde se halla el material genético (ADN).

Es característica la ausencia de membrana nuclear y de aparato mitótico.

La región nuclear está llena de fibrillas de ADN, el cual aparece enroscado alrededor de un centro de ARN que sirve para sostenerlo en su forma compacta. Puede considerarse como un cromosoma único, de aproximadamente 1 mm de longitud cuando está desenrollado.

Algunas bacterias contienen también pequeñas moléculas circulares de ADN, extracromosómicas, denominadas plásmidos.

Ribosomas

Son estructuras compuestas de ácido ribonucleico (ARN) y proteínas, con un diámetro aproximado de 20 nm, muy abundantes y dispersas por el citoplasma celular.

Los ribosomas son centros activos para la síntesis de proteínas. A veces aparecen agrupados en largas cadenas y se nombran polirribosomas.

Los tamaños relativos de los ribosomas y de sus dos subunidades constitutivas se determinan por sus coeficientes de sedimentación, expresados en términos de unidades Svedberg (S). Los ribosomas bacterianos, que son menores que los de las células eucarióticas, poseen un coeficiente de 70 S y sus subunidades tienen coeficientes de 50 S y de 30 S.

OTRAS ESTRUCTURAS CITOPLÁSMICAS

En los organismos fotosintéticos, los pigmentos correspondientes a la fotosíntesis se encuentran en laminillas por debajo de la membrana celular.

En algunas bacterias fotosintéticas las laminillas se vuelven contorneadas y se presentan en forma de vesículas o de sistemas de membranas yuxtapuestas, ricas en los pigmentos fotosintéticos y denominados *cromatóforos*.

Con frecuencia, las bacterias almacenan material de reserva en forma de gránulos citoplásmicos, que se depositan como polímeros neutrales y osmóticamente inertes. Entre estas sustancias podemos citar: gránulos de volutina (gránulos metacromáticos), de azufre, de glucógeno y lipídicos.

La presencia y la cantidad de estos gránulos varían con el tipo de bacteria y con su actividad metabólica.

Endosporas

Las bacterias pertenecientes a algunos géneros (*Bacillus*, *Clostridium*, *Sporosarcina*) son capaces de formar endosporas, en respuesta a condiciones desfavorables del medio, tales como: depauperación nutricional, desecación, agentes físicos y químicos con acción antibacteriana, etcétera.

Las esporas son visibles por microscopías óptica y electrónica (ver Capítulo 4).

En el proceso de esporulación se hace posible la modificación morfológica de la célula vegetativa en espora, que presenta estructuras muy complejas y son capaces de sobrevivir largos periodos en condiciones adversas del medio.

El proceso de esporulación implica una invaginación de la membrana celular para producir una estructura de doble membrana cuya superficie externa corresponde a la de síntesis de la pared celular. Las membranas comienzan una síntesis activa de las capas: la pared de la espora (peptidoglucano) y la corteza (tipo especial de peptidoglucano), que se hallan entre las membranas; la capa (proteína similar a la queratina) y el exosporio (lipoproteína de la membrana), que se encuentran fuera de las membranas. El centro es el protoplasto de la espora, el cual contiene cromosoma, los componentes del aparato sintetizador de proteínas y un sistema generador de energía.

Se plantea que la termorresistencia de las endosporas bacterianas sea debido a su estado de deshidratación y a la presencia de ácido dipicolínico (ADP), que se encuentra constituyendo el 5-15 % del peso específico de la espora, en forma de dipicolinato cálcico.

Las endosporas bacterianas preservan el material genético de la célula que las originó, pudiendo dar origen, en condiciones adecuadas, a las células vegetativas, proceso conocido por *germinación*. El proceso se lleva a cabo en tres etapas: activación, iniciación y excrecencia. Esta última requiere de la presencia de fuentes de abasto de los nutrientes indispensables para el desarrollo celular.

CÉLULA EUCARIÓTICA

Las células eucarióticas, mayores y estructuralmente más complejas que las procarióticas, existen como organismos unicelulares o como constituyentes de organismos multicelulares. Entre dichos seres unicelulares se encuentran algunos simples, como son las levaduras; y otros más complejos, como los protozoarios. Las células eucarióticas constituyen la unidad básica estructural de los reinos Protista, Vegetal, Hongo y Animal.

PARED CELULAR

En muchos de los organismos cuya estructura celular es eucariótica, la membrana celular o citoplásmica se halla rodeada de una pared celular, como se presenta en las células de los hongos, algas y plantas. La pared está ausente en la mayoría de los protozoarios y en todas las células de los mamíferos.

La pared de la célula eucariótica está formada, principalmente, por polisacáridos (por ejemplo, celulosa en las plantas y quitina y glucano en los hongos). Otras pueden estar constituidas por sustancias inorgánicas como es la pared de sílice en las diatomeas.

MEMBRANA CELULAR

Esta membrana que recubre al citoplasma y a su contenido, y que es capaz de mantener el intercambio con el medio exterior, tiene un mosaico estructural similar al de la célula procariótica (fosfolípidos y proteínas), aunque difiere por su abundante y variado contenido lipídico.

La membrana eucariótica contiene esteroides. En el caso de los mamíferos, las membranas poseen una gran cantidad de colesterol que contribuye a una mayor estabilidad estructural y a una menor permeabilidad a pequeñas moléculas hidrosolubles. En los hongos, la membrana es rica en ergosterol.

FLAGELOS

Son más grandes y complejos que los flagelos de los procariotas; consisten en nueve pares de microtúbulos periféricos, formados por la proteína tubulina. Asociadas a cada par de microtúbulos periféricos se encuentran pequeñas moléculas de proteína denominadas *dineína*.

Los flagelos son órganos de locomoción de estas células y se mueven en forma de látigo. Son más frecuentes entre los protozoarios, pero pueden también hallarse en algas. La mayoría de los eucariotas flagelados tienen un flagelo, pero pudieran presentar dos o más.

CILIOS

Los cilios son más cortos y numerosos que los flagelos, pero con estructura y composición química iguales. Se encuentran fundamentalmente en protozoos que pueden llegar a poseer hasta 10 000 o más cilios distribuidos sobre la superficie celular.

PSEUDÓPODOS

Son proyecciones del citoplasma celular que están asociadas a los movimientos ameboides. Este movimiento sólo es posible en las células carentes de pared.

NÚCLEO

Es la presencia de un núcleo en la célula eucariótica lo que marca una diferencia fundamental entre estas y las células procarióticas.

El núcleo está constituido por una membrana nuclear con poros nucleares, nucleoplasma, nucleolo y cromosomas pareados.

La membrana nuclear está formada por dos membranas concéntricas, una externa en contacto con el citoplasma, y una interna en contacto con el núcleo. Ambas membranas delimitan la cisterna perinuclear.

Las membranas están perforadas por poros, a través de los cuales se transportan moléculas del núcleo para el citoplasma (por ejemplo, ARN mensajero, ARN ribosomal) y del citoplasma para el núcleo (como las enzimas necesarias para la replicación de ADN y síntesis de ARN). Hacia el interior del núcleo y a continuación de la membrana nuclear interna existe una red filamentosa denominada *lámina nuclear*, la cual sirve de soporte a la estructura proteica de los poros.

ESTRUCTURAS CITOPLÁSMICAS

El citoplasma de las células eucarióticas se caracteriza por la presencia de un retículo endoplásmico, vacuolas, plástidas y un citoesqueleto.

El retículo endoplásmico está constituido por una red de canales limitados por membranas. Una parte de estos canales están recubiertos por ribosomas y se denomina *retículo endoplásmico rugoso*, el cual se encarga de la síntesis de proteínas que generalmente son secretadas por la célula. Otra parte, denominada *retículo endoplásmico liso*, contiene enzimas que sintetizan lípidos, especialmente aquellos que se usan en la elaboración de membranas; contiene también proteínas de transporte del calcio y enzimas que degradan drogas y otros componentes tóxicos al organismo, así como las que sintetizan hormonas esteroideas a partir del colesterol.

Las proteínas desempeñan un papel fundamental en el funcionamiento de las células eucarióticas. Parte de las proteínas celulares son sintetizadas por los ribosomas, los cuales son mayores que en las células procarióticas. Están constituidos por un 60 % de ARN y un 40 % de proteínas. Tienen un coeficiente de sedimentación de 80 S y sus subunidades poseen coeficientes de 60 S y 40 S. Las proteínas que se usan por la célula son elaboradas por los ribosomas que se encuentran libres en su citoplasma.

El aparato de Golgi está constituido por una serie de canales rodeados de vesículas. Continuamente se liberan vesículas y se fusionan las del aparato de Golgi y las del sistema retículo endoplásmico rugoso, con los correspondientes transportes de proteínas. Al atravesar el aparato de Golgi, las proteínas sufren una serie de modificaciones en sus estructuras, siendo, por tanto, un lugar del interior de la célula eucariótica donde se producen glucoproteínas.

Las *plástidas* contienen su propio ADN, el cual cifra algunas de sus proteínas y algunos ARN de transferencia. Las plástidas incluyen a las mitocondrias y los cloroplastos.

Las mitocondrias son estructuras complejas con una doble membrana, una externa y otra interna, con un contenido interior (matriz). En sus membranas contienen el sistema respiratorio de transporte de electrones. Los cloroplastos están presentes en los organismos que realizan fotosíntesis.

Otras estructuras citoplásmicas de las células eucarióticas son: lisosomas, peroxisomas y vacuolas; las dos primeras contienen enzimas y la tercera almacena material para ser usado como energía.

La plasticidad, la flexibilidad y la motilidad características de la célula eucariótica se deben a la presencia de una estructura proteica formada de microtúbulos y de microfilamentos, denominada *citoesqueleto*. Esta estructura representa un paso fundamental en la evolución de las células procarióticas a eucarióticas.

RESUMEN

Las células procarióticas y eucarióticas tienen membranas que delimitan la célula viva y ambas contienen información genética guardada en ADN. Las procarióticas poseen una pared celular con una estructura más compleja, con diferencias entre las bacterias grampositivas y las gramnegativas. Se describe la composición química y las funciones principales de las estructuras de las células procarióticas y eucarióticas.

BIBLIOGRAFÍA

- Black JG. Microbiology. Principles and Applications. 3rd ed. New Jersey, EUA: Prentice-Hall Inc. Simon and Shuster, 1996:74-107.
- Fonseca MC, Ferreira JFD. Características Morfológicas e Ultraestructurais dos Microrganismos Eucariotas. *En: Canas WF, Sousa JCF. Microbiología. Vol. I. Cap. 4. Lisboa, Portugal: Lidel-Edições Técnicas; 1998:53-70.*
- Hancock REW. Bacterial outer membranes: involving concepts. *ASM News; 57(4):175-82.*
- Koch AI. Growth and form of the bacterial cell wall. *Amer Scientist 1990.78(4)(July-August):327-42.*
- Morse SA. Estructura celular. *En: Brooks GF, Butel JS, Ornston LN, Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 15ta ed. en español. Cap. 2. México D.F.: Ed. El Manual Moderno, 1996:9-39.*
- Parente AM, Sousa JCF. Características Morfológicas e Ultraestructurais dos Microrganismos Procariotas. *En: Canas WF, Sousa JCF. Microbiología. Vol. I. Cap. 3. Lisboa, Portugal: Lidel-Edições Técnicas, 1998:19-52.*

A graphic featuring a circular, textured background in shades of yellow and blue. The word "Capítulo" is written in a purple, serif font at the top, and the number "6" is written in a larger, bold purple font below it. A horizontal purple line extends from the right side of the circle.

Metabolismo microbiano

Raquel de los A. Junco Díaz
Carlos M. Rodríguez Pérez

INTRODUCCIÓN

El crecimiento microbiano requiere la formación de estructuras bioquímicas complejas como proteínas, ácidos nucleicos, polisacáridos y lípidos a partir de elementos preformados en el medio de crecimiento o ser sintetizados por la propia célula; a su vez, este crecimiento necesita de una fuente de energía para ser llevado a efecto; todo este proceso se designa con el nombre de *metabolismo*, que se define como todas las transformaciones químicas que ocurren en una célula. Cuando este va dirigido a la síntesis de macromoléculas se le nombra *biosíntesis* o *anabolismo*, el cual requiere de un aporte de energía que proviene del *metabolismo degradativo* o *catabolismo*; la forma química usual en que se encuentra la energía es el adenosín-trifosfato (ATP), el cual es generado por diversos mecanismos como la fotosíntesis y a partir de compuestos inorgánicos y orgánicos. Estos elementos constitutivos o macromoléculas tienen su génesis en unos pocos precursores denominados *metabolitos focales*: glucosa-6-fosfato, fosfoenolpiruvato, oxalacetato y α -cetoglutarato, estos se interrelacionan y originan compuestos intermediarios: fosfatos de azúcares, piruvato, acetil CoA, aspartato, glutamato, etc.; y productos terminales como: aminoácidos, bases pirimidínicas, polisacáridos, lípidos, entre otros (Fig. 6.1).

La formación de una macromolécula se produce por los siguientes mecanismos:

1. *Dirigidos por una plantilla*: ADN y proteínas.
 - a) ADN: sirve como modelo para la autorreplicación y formación de los ARN (mensajero, ribosomal y de transferencia).
 - b) Proteínas: el ARNm sirve de modelo para la síntesis de proteínas.
2. *Dirigidos por enzimas*: lípidos y carbohidratos.

Estos elementos se autoensamblan y originan diversas estructuras celulares como: ribosomas, pared celular, flagelos, membranas, etcétera.

Es necesario que todo el proceso anterior (biosíntesis) sea regulado en su velocidad y actividad de las vías para que resulte equilibrado.

El metabolismo es un complejo proceso donde pueden utilizarse diversas vías o rutas para asimilarse un compuesto simple y una sola de ellas puede poseer varios mecanismos de control.

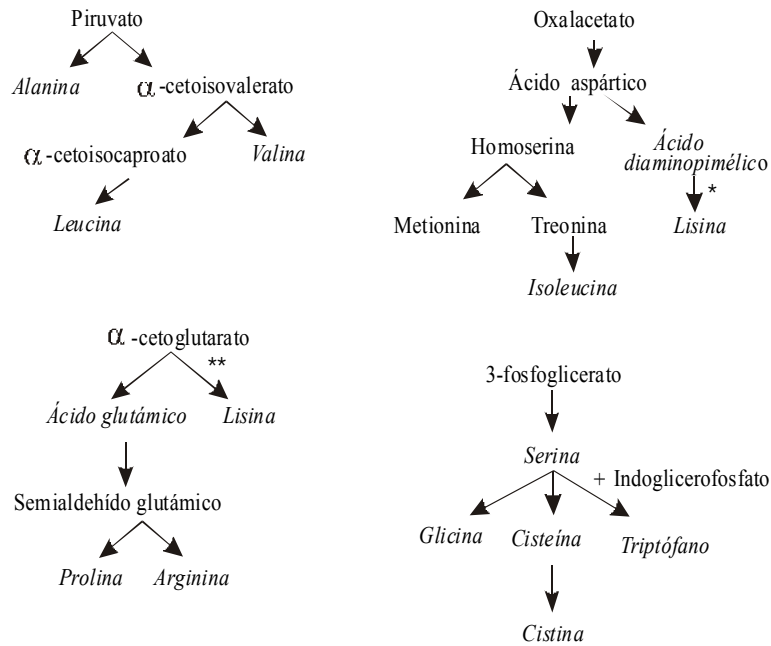


Fig. 6.1. Familias biosintéticas de aminoácidos.

*En bacterias.

** En hongos.

METABOLISMO DEGRADATIVO

Todas las rutas biosintéticas requieren la participación de ATP, que dona grupos fosfatos a diversos intermediarios metabólicos convirtiéndolos en formas activadas, y también enlaces ricos en energía; aunque existen otros compuestos con enlaces de alta energía que son utilizados en ciertas vías como:

1. Guanina-trifosfato (GTP).
2. Uridina-trifosfato (UTP).
3. Citidina-trifosfato (CTP).
4. Acetil coenzima A (Acetil CoA).

GENERACIÓN DEL ATP

El ATP es generado por los siguientes mecanismos que tienen lugar a nivel de membranas:

1. Fosforilación a nivel de sustrato.
2. Transporte de electrones.

MODOS DE METABOLISMO GENERADOR DE ATP

1. Oxidación biológica:
 - a) Fermentación: exclusiva de bacterias.
 - b) Respiración: exclusiva de bacterias y tres géneros de hongos.
2. Fotosíntesis.

Fermentación

Proceso metabólico generador de ATP en el que compuestos orgánicos sirven tanto de donadores (oxidación) como de aceptores de electrones (reducción) (Cuadro 6.1). Los

principales sustratos de la fermentación son los carbohidratos, aunque las bacterias pueden utilizar también ácidos orgánicos, aminoácidos, purinas y pirimidinas.

Cuadro. 6.1. Patrones de reacciones de oxidorreducción suministradoras de energía utilizadas por las bacterias

Donador de H ₂	Aceptor de H ₂		
	O ₂ (respiración anaerobia)	NO ₃ ⁻ , SO ₄ ⁻² , fumarato (respiración anaerobia)	Compuestos orgánicos (fermentación)
Sustancias inorgánicas	I. Respiración aerobia de sustancias inorgánicas Ej.: (<i>Nitrosomonas</i>) NH ₃ → NO ₂ ⁻ O ₂ → H ₂ O	II. Respiración anaerobia de sustancias inorgánicas Ej.: (<i>Thiobacillus denitrificans</i>) S → SO ₄ ⁻² NO ₃ ⁻ → N ₂	(Ninguno)
Sustancias orgánicas	III. Respiración aerobia de sustancias orgánicas Ej.: (Muchos organismos) Glucosa → CO ₂ O ₂ → H ₂ O	IV. Respiración anaerobia de sustancias orgánicas Ej.: (<i>Desulfovibrio</i>) Ácido láctico → CO ₂ SO ₄ ⁻² → H ₂ S	V. Fermentación de or sustancias orgánicas Ej.: (<i>Streptococcus</i>) - 4 H Glucosa → 2-piruvato + 4H 2 ácido láctico

Tomado de: Jawetz, E y cols.: Manual de Microbiología Médica. 14ta ed., 1981.

La fosforilación a nivel de sustrato es el único modo posible de formación de ATP como resultado de una fermentación, la cual puede ser realizada por los siguientes grupos de microorganismos:

1. Anaerobios estrictos.
2. Facultativos.
3. Anaerobios aerotolerantes.

En los dos primeros, la presencia de oxígeno modifica el metabolismo generador de ATP; en el tercero esto no ocurre.

Respiración

Proceso metabólico generador de ATP en el que tanto compuestos orgánicos (organismos heterótrofos) como inorgánicos (litótrofos, exclusivo de las bacterias) sirven para donar electrones, y para aceptar los mismos, sólo los inorgánicos (reducción) (Cuadro 6.2). En el caso de los microorganismos aerobios, el último aceptor es el oxígeno y en los anaerobios, los sulfatos, nitratos y carbonatos; los facultativos pueden generar ATP por fermentación como los anaerobios.

La respiración aerobia es la más completa, eficiente y evolucionada; consta de tres etapas fundamentales:

1. Formación de piruvato a partir de azúcares, grasas o proteínas.
2. Ciclo del ácido tricarboxílico.
3. Cadena de transporte de electrones.

En todo proceso respiratorio lo más distintivo es la presencia de compuestos que pueden ser oxidados y reducidos de forma reversible, estos forman la cadena de transporte de electrones, donde se forma ATP mediante un mecanismo denominado *fosforilación oxidativa*.

Fotosíntesis

Utilización de la luz como fuente de energía. Aquí el ATP es producido por transferencia de energía de la luz absorbida por pigmentos fotosintéticos, análogo a la fosforilación oxidativa.

Cuadro. 6.2. Vías de metabolismo de los carbohidratos

Vías	Compuestos intermedios claves generados
Vía de Embden-Meyerhof	Glucosa-1-fosfato 3-fosfogliceraldehído Fosfoenolpiruvato (PEP) Piruvato
Vía oxidativa directa	Pentosa fosfatos D-eritrosa-4-fosfato
Descarboxilación del piruvato	Acetil CoA CO ₂
Ciclo de los ácidos tricarboxílicos (CAT) y su regeneración por la carboxilación del PEP	Oxalacetato α-cetoglutarato CO ₂

Tomado de: Jawetz E y cols. Manual de Microbiología Médica. 14ta ed., 1981.

Los organismos fotosintéticos (plantas, algas, cianobacterias) utilizan el CO₂ como fuente de carbono y el hidrógeno como aceptor final, el cual se oxida y se forma agua. Ciertos procariotas fotosintéticos (bacterias rojas y verdes) emplean compuestos inorgánicos como el hidrógeno y el ácido sulfhídrico como aceptor final.

VÍAS O RUTAS CATABÓLICAS COMUNES EN EL METABOLISMO FERMENTATIVO Y RESPIRATORIO CON UN METABOLITO INTERMEDIARIO CLAVE: EL ÁCIDO PIRÚVICO

1. *Vía de Embden-Meyerhof-Parnas (glucolítica)*: mecanismo común de fermentación de la glucosa, transforma al fosfato de hexosa en dos triosas y a estos en dos moléculas de piruvato. Esta vía produce un rendimiento neto de dos moles de ATP por mol de glucosa fermentada y forma 2 NADH. Proceso poco eficiente por la cantidad de energía que aún queda en el sustrato. Donantes y aceptores son moléculas orgánicas y en muchas ocasiones son la misma molécula. Para que el NADH sea reoxidado por necesidades celulares, el ácido pirúvico debe reducirse y esto depende de la célula. La fermentación es distintiva de grupo y especie (Cuadro 6.3).
2. *Vía de las pentosas-fosfato*: cumple dos funciones vitales para el metabolismo:
 - a) Produce la ribosa-5-fosfato para la síntesis de ácidos nucleicos.
 - b) Elabora gran parte de NADPH requerido en la biosíntesis.
3. *Vía de Entner-Doudoroff*: produce sólo una molécula de fosfato de triosa a partir de la glucosa, por tanto, la producción de energía es baja, sólo un ATP y dos NADH. Las vías 1 y 2 se observan en muchos organismos (procariotas y eucariotas); la 3 se halla restringida a ciertos grupos de procariotas.
4. *Ciclo del ácido tricarboxílico*: ruta principal de producción de ATP en aerobios. Genera compuestos intermediarios requeridos en rutas biosintéticas. Se oxida una molécula de ácido acético a CO₂, se producen tres moléculas de NADH y un par de electrones que entran en la cadena de transporte de electrones (complejos enzimáticos asociados a membranas) independientes del NADH.

Esta cadena de transporte de electrones se caracteriza por poseer proteínas con un núcleo de Fe⁺⁺ (citocromos a, b, c), que permiten el paso de protones de una molécula a otra; esto es reversible, creándose una diferencia de energía utilizada para la síntesis del ATP; a esto se llama fosforilación oxidativa, finalmente el O₂ acepta el H₂ y se forma H₂O. El paso de electrones de un citocromo a otro se efectúa por la presencia de enzimas

citocromoxidasas y ATPasas. En bacterias, la cadena de electrones es la misma, sólo que la variedad de citocromos y citocromoxidasas es mayor, lo cual permite simultanear varias cadenas; por ello, en condiciones adversas, pueden utilizar la que más le convenga.

Cuadro 6.3. Fermentaciones microbianas basadas en la vía de Embden-Meyerhof-Parnas

Fermentación	Organismos	Productos
Alcohol etílico	Algunos hongos (en especial algunas levaduras)	Alcohol etílico, CO ₂
Ácido láctico (homofermentación)	<i>Streptococcus</i> Algunas especies de <i>Lactobacillus</i>	Ácido láctico (representa cuando menos 90 % de la fuente energética del carbono)
Butilenglicol	<i>Enterobacter</i> <i>Aeromonas</i> <i>Bacillus polymyxa</i>	Alcohol etílico, acetoína, 2,3-butilenglicol, CO ₂ , ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico (ácidos totales = 21 moles)
Ácido propiónico	<i>Clostridium propionicum</i> <i>Propionibacterium</i> <i>Corynebacterium diphteriae</i> Algunas especies de: <i>Neisseria</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Micromonospora</i>	Ácido propiónico, ácido acético, ácido succínico, CO ₂
Ácidos mixtos	<i>Escherichia</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> <i>Proteus</i>	Ácidos: láctico, acético, fórmico, succínico, H ₂ , CO ₂ , alcohol etílico (ácidos totales = 159 moles)
Alcohol butílico-ácido butílico	<i>Butyribacterium</i> <i>Zymosarcina maxima</i> Algunas especies de <i>Clostridium</i> y <i>Neisseria</i>	Alcohol butílico, ácido butírico, acetona, isopropanol, ácido acético, alcohol etílico, H ₂ , CO ₂

Tomado de: Jawetz E y cols. Manual de Microbiología Médica. 14ta ed., 1981.

VÍAS BIOSINTÉTICAS

Muchos microorganismos son capaces de asimilar los principales bioelementos (carbono, nitrógeno, azufre, hidrógeno y oxígeno) en forma inorgánica: el carbono como CO₂; el nitrógeno como amoníaco, nitrato o N₂; el azufre como sulfato, y el oxígeno y el hidrógeno como agua. La utilización de CO₂ como única fuente de carbono y energía es característica de los microorganismos autótrofos, incluidas las algas y muchas bacterias fotosintéticas y quimioautotróficas. El amoníaco puede ser utilizado como única fuente de nitrógeno por muchos organismos pertenecientes a todas las categorías nutricionales; algunos de estos microorganismos también emplean nitratos. La capacidad de utilizar N₂ como fuente de nitrógeno (fijación del nitrógeno) está restringida a procariotas y es relativamente rara, incluso, dentro de este grupo. La mayoría de los microorganismos pueden utilizar sulfato como fuente de azufre.

SÍNTESIS DE COMPONENTES DE LA PARED CELULAR

La síntesis de los componentes de la pared es única entre los biopolímeros porque la polimerización tiene lugar fuera de la membrana celular, en donde no hay ATP disponible. La biosíntesis de la capa de peptidoglucano de la pared sirve de ejemplo útil para ver como pueden ser sintetizados polímeros extra-membrana.

SÍNTESIS DEL PEPTIDOGLUCANO

Las unidades repetitivas del peptidoglucano se sintetizan dentro del citoplasma, mientras están unidas al nucleótido uridín difosfato (UDP); luego, son transferidas a un lípido transportador que facilita su desplazamiento a través de la membrana. Finalmente, se polimerizan dando peptidoglucano en la cara externa de la membrana, gracias a enzimas localizadas en esta región.

El peptidoglucano difiere de todos los biopolímeros en que es una red bidimensional en lugar de una cadena de moléculas; rodea la célula como si fuera un saco. Por ello, su síntesis requiere que las unidades repetitivas sean enlazadas químicamente en dos dimensiones. La composición química del saco del peptidoglucano es similar en todos los procariotas, diferenciándose sólo en la composición de aminoácidos dentro de la cadena tetrapeptídica y en la naturaleza y frecuencia de los enlaces entre las distintas cadenas tetrapeptídicas.

El ácido N-acetilmurámico se va sintetizando gradualmente en el citoplasma, mientras está unido al UDP; luego es transferido a un lípido C_{55} isoprenoide (bactoprenol) que actúa de transportador y está en la membrana. De esta manera se añade un resto de N-acetilglucosamina, completándose la subunidad monomérica del peptidoglucano. Unida a la larga cadena del lípido, la subunidad puede atravesar la membrana hasta llegar a la cara externa, en donde es polimerizada mediante enlaces 1,4-glucosídicos, en un punto de crecimiento del saco de peptidoglucano. Finalmente, si la nueva subunidad monomérica ha de estar implicada en un enlace transversal entre cadenas peptídicas, una enzima de la porción externa de la membrana cataliza una reacción de transpeptidación rompiendo el enlace peptídico entre los dos restos subterminales de D-alanina y el grupo amino libre del ácido diaminopimélico de una cadena peptídica adyacente. Si el péptido no está implicado en un enlace transversal, la misma enzima elimina el grupo terminal de D-alanina sin formar un nuevo enlace peptídico.

Como la capa de peptidoglucano es responsable de la fortaleza estructural que resiste la presión osmótica interna, típica de las bacterias que crecen en la mayoría de los ambientes, mientras la célula crece debe quedar intacta en su mayor parte. Sin embargo, el peptidoglucano puede compararse con una red. La rotura de la malla en un punto no reduce su fuerza estructural de manera significativa. Durante el crecimiento, el saco de peptidoglucano se va abriendo en distintos puntos gracias a enzimas autolíticas sumamente controladas, permitiendo así su agrandamiento mediante la inserción de nuevas subunidades monoméricas.

SÍNTESIS DEL LIPOPOLISACÁRIDO

La capa más externa de la pared de las bacterias gramnegativas aparece en las microfotografías electrónicas similar a la membrana celular. Sin embargo, su estructura química es diferente. Contiene un material lipídico complejo, el lípido A, que a su vez contiene pares de restos de glucosamina sustituidos por ácidos grasos de cadena larga y por fosfato. El lípido A está unido a un carbohidrato complejo el cual está compuesto por una variedad de azúcares, incluido el 2-ceto-3-desoxioctanato, un compuesto que sólo se halla en la capa de polisacáridos. Al final, en la parte externa de la capa se encuentran cadenas de polisacáridos que penetran en el medio, estas son las cadenas específicas O (antígeno O), las cuales confieren propiedades antigénicas específicas a las bacterias gramnegativas.

Actualmente se conoce que la ruta de síntesis del antígeno O tiene cierto parecido con la del peptidoglucano, ya que durante su síntesis está unida a un lípido isoprenoide C_{55} . Sin embargo, difiere en que la síntesis compleja tiene lugar mientras está unida al lípido C_{55} .

SÍNTESIS DE LOS POLÍMEROS CAPSULARES EXTRACELULARES

Los polímeros capsulares se sintetizan de manera enzimática a partir de subunidades activadas. Este proceso no requiere de la participación de ningún portador lípido fijo a la membrana. La presencia de cápsulas depende a menudo del ambiente, por ejemplo, se pueden sintetizar dextranos y levanos sólo si se dispone de sacarosa en el medio.

SÍNTESIS DE GRÁNULOS ALIMENTICIOS DE RESERVA

Las bacterias convierten algunos de los nutrientes en exceso en gránulos alimenticios intracelulares de reserva. Los principales son: almidón, glucógeno, poli- β -hidroxibutirato y volutina, la cual consiste en polifosfato inorgánico. El tipo de gránulo formado es específico de especie. Los gránulos se degradan cuando se agotan los nutrientes exógenos.

REGULACIÓN

En la célula operan dos mecanismos diferentes de regulación: la regulación de la síntesis enzimática y la regulación de la actividad enzimática. En ambos casos, actúan de mediadores componentes de bajo peso molecular, los cuales o bien son formados en la célula como metabolitos intermediarios, o bien entran en ella procedentes del medio. En ambos mecanismos reguladores actúan proteínas alostéricas.

Las proteínas alostéricas son aquellas cuyas propiedades cambian si se les unen moléculas específicas denominadas *efectores*. Existen dos clases de proteínas alostéricas: las enzimas alostéricas cuya actividad se incrementa o se inhibe cuando se combinan con sus efectores, y las proteínas alostéricas reguladoras que modulan la actividad de enzimas específicas.

REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Las proteínas alostéricas estudiadas con mayor detalle han sido las enzimas alostéricas, cuyo ejemplo lo constituye la aspartato transcarbamilasa (ATCasa), que cataliza la primera reacción de la biosíntesis de las pirimidinas y cuya actividad es inhibida por un producto final, la citidina trifosfato (CTP). Concentraciones intracelulares elevadas de CTP inhiben el funcionamiento de la ATCasa y, en consecuencia, la formación de más CTP hasta que su concentración disminuye a un nivel óptimo. El ATP, un segundo efector de la ATCasa, activa la enzima, sirviendo para coordinar la síntesis de nucleótidos de purina y pirimidina. Las enzimas alostéricas son siempre proteínas de peso molecular relativamente elevado, compuestas por múltiples subunidades. Por regla general, estas subunidades son idénticas, poseyendo cada una un lugar catalítico y otro alostérico. No obstante, la ATCasa se compone de dos clases diferentes de subunidades, una con función catalítica y otra con funciones reguladoras.

REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS ENZIMÁTICA

La inhibición por el producto final mediada por enzimas alostéricas es en gran medida suficiente para asegurar que todas las rutas catabólicas y biosintéticas operen en equilibrio. Sin embargo, cuando no es necesario el producto de una ruta metabólica, las enzimas que catalizan las reacciones de las mismas resultan innecesarias.

Muchas bacterias son capaces de utilizar un amplio espectro de compuestos orgánicos diferentes como fuente de carbono y energía, pero en un momento dado, puede que sólo uno de estos compuestos esté presente en el medio. Aunque la información genética necesaria para sintetizar las enzimas importantes se encuentra siempre presente, su expresión fenotípica está determinada por el medio, y una enzima determinada se sintetiza en respuesta a la presencia de su sustrato.

RESUMEN

Se describe el concepto de metabolismo, su subdivisión en anabolismo o biosíntesis con el consiguiente consumo energético, y catabolismo o metabolismo degradativo proveedor de la energía necesaria para la biosíntesis. Son expuestos los metabolitos focales (glucosa-6-fosfato), fosfoenolpiruvato, oxalacetato y α -cetoglutarato, como precursores de las macromoléculas y la generación del ATP para formar los mismos mediante la fosforilación

oxidativa y el transporte de electrones. Se detallan aspectos de los modos de metabolismo generador de ATP (fermentación, respiración y fotosíntesis) con el balance energético general, también las vías o rutas catabólicas comunes en el metabolismo fermentativo y respiratorio, donde existe un metabolito intermediario clave: el ácido pirúvico.

Se brindan algunos aspectos de las principales vías biosintéticas, tales como la síntesis de los componentes de la pared celular (peptidoglucano y lipopolisacárido), los polímeros capsulares extracelulares y los gránulos alimenticios de reserva. Además, se describen los dos mecanismos diferentes de regulación: la regulación de la síntesis enzimática y la regulación de la actividad enzimática.

BIBLIOGRAFÍA

- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 15ta ed. México D.F.: Ed. El Manual Moderno, 1996.
- Jurtshuk P. Bacterial Metabolism. *In: Medical Microbiology*. 4th ed. Samuel Baron (ed.). USA: The University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996.
- Stanier RY, Adelberg EA, Ingraham JL. Microbiología. 4ta ed. Barcelona: Editorial Reverté SA, 1984.



Cultivo y crecimiento de los microorganismos

Raquel de los A. Junco Díaz
Carlos M. Rodríguez Pérez

INTRODUCCIÓN

Se denomina cultivo al proceso de propagar los microorganismos, proporcionándoles las condiciones ambientales adecuadas.

Los microorganismos en fase de crecimiento realizan réplicas de sí mismos y requieren de los elementos que se encuentran en su composición química. Se le deben brindar los elementos nutritivos en una forma accesible desde el punto de vista metabólico. Además, los microorganismos requieren energía metabólica con el objetivo de sintetizar macromoléculas y conservar los gradientes químicos esenciales a través de sus membranas.

Durante el crecimiento se deben regular los factores nutricionales (carbono, nitrógeno, azufre y fósforo, elementos trazas y vitaminas) y los factores físicos (pH, temperatura, oxígeno, humedad, presión hidrostática, presión osmótica y radiación).

REQUERIMIENTOS PARA EL CRECIMIENTO

El peso seco de los microorganismos consiste en materia orgánica que contiene carbono, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno, fósforo y azufre. Se requieren, además, iones inorgánicos como potasio, sodio, hierro, magnesio, calcio y cloruro para facilitar la catálisis enzimática y conservar los gradientes químicos a través de la membrana celular.

La materia orgánica se encuentra en macromoléculas formadas por enlaces anhídridos entre los bloques estructurales. Para la síntesis de los enlaces anhídridos se requiere la energía química proporcionada por los dos enlaces fosfodiéstericos del ATP (trifosfato de adenosina). Para conservar una composición citoplásmica relativamente constante, se necesita una energía adicional derivada de la fuerza motriz protónica que es la energía potencial que se puede liberar al pasar un protón a través de una membrana. En los organismos eucariotas la membrana puede ser parte de la mitocondria o del cloroplasto; mientras que en los organismos procariotas la membrana es la membrana citoplásmica de la célula.

Durante el crecimiento, un microorganismo requiere todos los elementos de su materia orgánica y el complemento total de iones necesarios para la energética y la catálisis. Además, debe haber una fuente de energía que establezca la fuerza motriz protónica y que permita la

síntesis macromolecular. Los microorganismos varían ampliamente en cuanto a sus demandas nutricionales y sus fuentes de energía metabólica.

FUENTES DE ENERGÍA METABÓLICA

Los tres modos principales de generar energía metabólica son: fermentación, respiración y fotosíntesis. Los microorganismos, para poder crecer, deben utilizar, por lo menos, uno de estos mecanismos, cuya descripción se refiere en el Capítulo 6.

NUTRICIÓN

La nutrición es la provisión de nutrientes para el crecimiento de un organismo. Los nutrientes de los medios de cultivo deben contener todos los elementos necesarios para la síntesis biológica de los microorganismos e incluyen carbono, nitrógeno, azufre, fósforo, elementos trazas y vitaminas.

FACTORES NUTRICIONALES

FUENTE DE CARBONO

La mayoría de las bacterias utilizan compuestos de carbono como fuente de energía y otras, para la síntesis de elementos celulares. Los organismos fotosintéticos reducen el dióxido de carbono (CO_2) a glucosa y otras moléculas orgánicas. Los organismos autótrofos emplean nutrientes completamente inorgánicos; mientras que los heterótrofos requieren nutrientes orgánicos. Ambos organismos, autótrofos y heterótrofos, obtienen la energía a partir de la glucosa por glicólisis, fermentación y el ciclo de Krebs. Ellos, además, sintetizan algunos componentes celulares a partir de intermediarios formados por medio de estas vías.

FUENTE DE NITRÓGENO

Todos los organismos, incluyendo los microorganismos, necesitan nitrógeno para sintetizar enzimas, proteínas y ácidos nucleicos. Algunos microorganismos obtienen el nitrógeno a partir de fuentes inorgánicas y otros adquieren la energía mediante el metabolismo de sustancias que contienen nitrógeno inorgánico. Los procesos por los cuales las proteínas y los ácidos nucleicos son sintetizados, están directamente relacionados con la información genética contenida en la célula. El producto final de todas las vías de asimilación del nitrógeno es la forma más reducida del elemento, el ion amonio (NH_4^+).

Muchos microorganismos poseen capacidad para asimilar el nitrato (NO_3^-) y el nitrito (NO_2^-) de manera reductiva al convertir a estos iones en amoníaco (NH_3). Estas vías de asimilación difieren de las vías empleadas para la desasimilación de nitrato y nitrito. Emplean las vías desasimilatorias los microorganismos que recurren a los iones como aceptores finales de electrones en la respiración; este proceso se llama *desnitrificación* y su producto es el gas nitrógeno (N_2) que vuelve a la atmósfera.

La capacidad para asimilar N_2 de manera reductiva por medio del NH_3 se nombra *fijación del nitrógeno*, y es una propiedad única de los procariotas, siendo pocas las bacterias que poseen esta capacidad metabólica. El proceso requiere gran cantidad de energía metabólica y se inactiva con facilidad por acción del oxígeno.

La mayor parte de los microorganismos pueden recurrir al NH_4^+ como única fuente de nitrógeno, y muchos otros poseen capacidad para producir este ion a partir de las aminas (R-NH_2).

AZUFRE Y FÓSFORO

Además del carbono y el nitrógeno, los microorganismos necesitan un suministro de ciertos minerales, especialmente azufre y fósforo, los cuales son componentes celulares

importantes. Ellos obtienen el azufre a partir de las sales inorgánicas de sulfato y de los aminoácidos que contienen azufre, y lo utilizan en la elaboración de proteínas, coenzimas y otros componentes celulares. El fósforo es adquirido, principalmente, mediante iones fosfato inorgánico (PO_4^{3-}) y lo emplean para sintetizar ATP, fosfolípidos y ácidos nucleicos.

ELEMENTOS TRAZAS

Muchos microorganismos requieren una variedad de elementos trazas, usualmente en la forma de iones. Todos los organismos necesitan cierta cantidad de sodio y cloro, y los halófilos lo requieren en grandes cantidades. Potasio, zinc y manganeso son usados para activar ciertas enzimas. El cobalto es necesario a los organismos que sintetizan vitamina B_{12} . El hierro es importante para la síntesis de compuestos que contienen el núcleo heme y para ciertas enzimas. Las bacterias grampositivas requieren calcio para la síntesis de las paredes celulares y los organismos formadores de esporas, para la síntesis de las paredes de la espora.

VITAMINAS

Las vitaminas necesarias para algunos microorganismos incluyen inositol, ácido fólico, vitamina B_{12} y vitamina K. Los microorganismos patógenos humanos requieren a menudo una variedad de vitaminas y por esta razón son capaces de crecer solamente cuando pueden obtener esas sustancias a partir del organismo hospedero. El desarrollo de tales organismos en el laboratorio necesita un medio complejo el cual contenga todos los nutrientes que normalmente obtiene de sus hospederos.

FACTORES AMBIENTALES QUE AFECTAN EL CRECIMIENTO

El crecimiento microbiano puede estar influido por una variedad de factores, tanto físicos como nutricionales. Los factores físicos incluyen: la concentración de iones hidrógeno (pH), la temperatura, la concentración de oxígeno, la humedad, la presión hidrostática, la presión osmótica y la radiación. Los factores nutricionales comprenden: la disponibilidad de carbono, nitrógeno, azufre, fósforo y otros minerales, y en algunos casos vitaminas.

FACTORES NUTRICIONALES

En las páginas anteriores se describieron los nutrientes necesarios para el cultivo de los microorganismos.

Para realizar estudios sobre metabolismo microbiano, por lo general es necesario preparar medios completamente sintéticos en los cuales las características y la concentración de cada ingrediente sean exactamente conocidas.

La mayoría de los microorganismos de vida libre crecen bien en extracto de levaduras, mientras que las formas parásitas pueden requerir sustancias especiales que se encuentran únicamente en la sangre o en extractos de tejidos animales.

Para muchos organismos, un solo compuesto (como un aminoácido) puede servir como fuente de energía, de carbono y de nitrógeno; otros requieren un compuesto diferente para cada una de ellas.

FACTORES FÍSICOS

Concentración de iones hidrógeno (pH)

La acidez o alcalinidad de un medio es expresada en términos de pH. Los microorganismos tienen un pH óptimo en el cual se obtiene el mejor crecimiento. Comúnmente, el pH óptimo

es neutro (pH 7), y la mayoría de los microorganismos no se desarrollan a una unidad de pH por encima o por debajo de su pH óptimo.

Las bacterias son clasificadas como acidófilas, neutrófilas y alcalinófilas de acuerdo con las condiciones de acidez o alcalinidad que ellas puedan tolerar. Las bacterias *acidófilas* se desarrollan en un rango que va desde pH 0,0 hasta 5,4. Las bacterias *neutrófilas* crecen en un rango de pH 5,4 hasta 8,5; incluyéndose en este grupo a la mayoría de las bacterias que causan enfermedades en el hombre. Las bacterias alcalinófilas se desarrollan entre un pH 7,0 hasta 11,5. *Vibrio cholerae*, agente causal del cólera, se desarrolla mejor a un pH cercano a 9.

Temperatura

La mayoría de las bacterias se desarrollan a un rango de temperatura por encima de 30 °C, pero las temperaturas mínimas y máximas varían considerablemente para las diferentes especies. Las bacterias pueden ser clasificadas, de acuerdo con el rango de temperatura al cual se desarrollan, en psicrófilas, mesófilas y termófilas; y a su vez subclasificadas como obligadas o facultativas. *Obligada* significa que el organismo debe tener las condiciones ambientales específicas, y *facultativa* que el organismo es capaz de tolerar las condiciones ambientales, pero puede desarrollarse, además, en otro ambiente.

Las bacterias *psicrófilas* se desarrollan mejor entre 15 y 20 °C, y pueden ser subdivididas en psicrófilas obligadas cuando no crecen por encima de 20 °C y psicrófilas facultativas cuando son capaces de crecer por debajo y por encima de 20 °C.

Las bacterias *mesófilas* incluyen a la mayoría de las bacterias y se desarrollan en un rango de temperatura entre 30 y 37 °C. Las bacterias patógenas al hombre están incluidas en esta categoría y la mayoría de ellas crecen mejor a una temperatura cercana al cuerpo humano (37 °C).

Las bacterias *termófilas* se desarrollan mejor a temperaturas entre 50 y 60 °C.

Concentración de oxígeno

Las bacterias, especialmente las heterótrofas, pueden ser divididas en aerobias, que requieren oxígeno para crecer, y anaerobias, las cuales no lo requieren. Los microorganismos aerobios obligados, tales como *Pseudomonas*, que causa muchas infecciones adquiridas en el hospital, se desarrollan en presencia de oxígeno libre; mientras que los anaerobios obligados, tales como *Bacteroides*, mueren en presencia de oxígeno libre. Entre estos extremos se encuentran los microorganismos microaerófilos que se desarrollan mejor en presencia de una pequeña cantidad de oxígeno libre. Los microorganismos anaerobios facultativos son capaces de desarrollarse en ausencia y en presencia de oxígeno. *Bacillus* y *Staphylococcus* son anaerobios facultativos y se encuentran en el tracto intestinal y urinario donde sólo está disponible una pequeña cantidad de oxígeno.

Humedad

Generalmente todas las células con un metabolismo activo requieren agua del ambiente. A diferencia de los organismos superiores, los organismos unicelulares están expuestos directamente a su ambiente. La mayoría de las células vegetativas sólo pueden vivir pocas horas sin humedad; sólo las esporas y los organismos formadores de esporas pueden existir en un ambiente seco.

Presión hidrostática

Las bacterias que viven a altas presiones mueren si son mantenidas en el laboratorio pocas horas en condiciones de presión atmosférica estándar.

Presión osmótica

La mayoría de las bacterias pueden tolerar un rango amplio de concentraciones de sustancias disueltas. Su membrana celular contiene un sistema enzimático llamado permeasas

que regulan el movimiento de las sustancias disueltas a través de las membranas. Si la concentración fuera de la célula se torna demasiado alta, la pérdida de agua puede inhibir o detener el crecimiento celular.

Ciertas bacterias llamadas halofílicas requieren de una moderada a gran cantidad de sal y se hallan en el océano donde la concentración de sal (3,5 %) es óptima para su crecimiento.

Radiación

La energía radiante, particularmente la luz ultravioleta, puede causar mutaciones y eventualmente ocasionar la muerte de los organismos. Sin embargo, algunos microorganismos tienen pigmentos que los protegen de la radiación y ayudan a prevenir el daño del ADN. Otros poseen sistemas enzimáticos que pueden reparar algunos tipos de daños del ADN.

MÉTODOS DE CULTIVO

Debido al pequeño tamaño de los microorganismos, la información que puede obtenerse acerca de sus propiedades a partir del examen de los individuos es limitada; en la mayoría de los casos se estudian poblaciones que contienen millones o miles de millones de individuos. Estas poblaciones se obtienen al hacer crecer los microorganismos bajo condiciones más o menos bien definidas, como cultivos.

Un cultivo que contiene solamente una clase de microorganismo se conoce como *cultivo puro*; el que comprende más de una clase de microorganismo se denomina *cultivo mixto*.

En el estudio de los microorganismos es importante tener presente dos aspectos fundamentales: el cultivo, procedimiento mediante el cual se promueve el crecimiento de los microorganismos al brindarles las condiciones ambientales adecuadas, y el aislamiento de un organismo en cultivo puro, mediante la aplicación de técnicas de laboratorio para separarlo de las poblaciones mixtas.

Estas dos operaciones son básicamente iguales para el estudio de los virus, las bacterias, los hongos, los helmintos y los protozoos.

AISLAMIENTO DE UN ORGANISMO EN CULTIVO PURO

Para estudiar las propiedades de un organismo, es necesario no sólo su aislamiento a partir de una población microbiana natural mixta, sino también su mantenimiento y el de su descendencia en estado aislado, en un ambiente artificial en el que se impida el acceso de otros microorganismos. Para esto se cuenta con varios métodos:

Siembra en placa. La manera más fácil de obtener cultivos puros de los microorganismos que forman colonias sobre los medios sólidos, se lleva a cabo mediante la separación e inmovilización de los organismos individuales sobre o dentro de un medio nutritivo solidificado; cada célula crecerá dando una colonia aislada cuya transferencia puede hacerse fácilmente. La sustancia solidificante ideal para la mayor parte de los medios de cultivo microbiológicos es el agar, un polisacárido ácido extraído de ciertas algas rojas. En una concentración de 1,5-2 %, en suspensión acuosa, se disuelve a 100 °C formando una solución clara que solidifica a 45 °C, la cual no volverá a licuarse hasta temperaturas mayores de 80 °C, de manera que cualquier temperatura empleada para la incubación posterior puede ser usada. La siembra por estría es el método más útil de sembrar en placa y se realiza empleando un asa de alambre estéril que se introduce en la suspensión original para luego hacer una serie de estrías paralelas, no superpuestas, sobre una placa de agar. Al ir avanzando la estría, el inóculo va disminuyendo hasta obtener colonias bien aisladas sobre el agar. Alternativamente, los aislamientos pueden hacerse con placas sembradas por vertido, para ello una suspensión del microorganismo se mezcla con el medio de cultivo que contiene agar fundido el cual se vacía en placas de Petri estériles; cuando el agar se solidifica, las células se inmovilizan y se desarrollan dando colonias aisladas.

Dilución. Los métodos de siembra en placa por lo general son satisfactorios para el aislamiento de bacterias y hongos. Sin embargo, muchos protozoos son sólo cultivables en

medio líquido. El método más sencillo de aislamiento en medios líquidos es el método de las diluciones. Con una suspensión del microorganismo, se realiza una dilución en serie utilizando un medio estéril y se inocula un gran número de tubos con el medio de cultivo, con partes alícuotas de cada una de las diluciones sucesivas. Como resultado de esto, si un tubo muestra algún crecimiento subsiguiente, existe una elevada probabilidad de que este crecimiento sea el resultado de la introducción de un solo organismo.

Cuando no puede aplicarse ni el método de siembra en placa ni el de las diluciones, una alternativa consiste en recurrir al aislamiento microscópicamente controlado, de un solo organismo a partir de una población mixta.

CULTIVO DE VIRUS

Muchos virus pueden desarrollarse en cultivos celulares o en huevos fértiles en condiciones estrictamente controladas. La disponibilidad de células desarrolladas *in vitro* ha facilitado la identificación y el cultivo de virus recién aislados y la caracterización de los que ya se conocían. Hay tres tipos básicos de cultivo celular:

1. Los cultivos primarios se efectúan mediante dispersión de células de tejidos huéspedes recién extirpados. En general no pueden crecer más allá de unos cuantos pasos en cultivo, como cultivos secundarios.
2. Las líneas celulares diploides son cultivos secundarios que han experimentado un cambio el cual permite su cultivo limitado, pero que retienen su patrón cromosómico normal.
3. Las líneas celulares continuas son cultivos capaces de crecimiento más prolongado, quizá indefinido, y que se han obtenido de líneas celulares diploides o de tejidos malignos.

El tipo de cultivo celular que se use para cultivar virus depende de la sensibilidad de las células a un virus particular.

CULTIVO DE HONGOS

La mayor parte de los hongos existen en la naturaleza y proliferan con facilidad en presencia de fuentes simples de nitrógeno y carbohidratos. Los cultivos para hongos se hacen comúnmente en juegos de pares, uno incubado entre 25 a 30 °C y el otro entre 35 a 37 °C.

CRECIMIENTO MICROBIANO

Se define como crecimiento al aumento ordenado de todos los componentes químicos de un organismo. El aumento de masa (tamaño) no resulta un crecimiento verdadero, ya que las células pueden estar incrementando sus reservas, captando agua, etcétera.

Las bacterias que se adaptan a un medio adecuado se encuentran en un estado de crecimiento equilibrado donde la duplicación de la biomasa representa la duplicación de todas las demás propiedades medibles como son el ARN, ADN, proteínas y el agua intracelular. La existencia de este crecimiento equilibrado es de gran ayuda a la hora de medir el crecimiento bacteriano pues, como todos los componentes poseen la misma velocidad de crecimiento, basta medir uno solo de ellos para determinar la misma.

La multiplicación celular es una consecuencia del crecimiento, esta conduce al aumento en número de individuos originando una población o cultivo.

EXPRESIÓN MATEMÁTICA DEL CRECIMIENTO

En un crecimiento equilibrado, la velocidad de aumento de bacterias en un tiempo determinado es directamente proporcional al número o masa de bacterias presentes en ese tiempo.

μ (masa de células) = velocidad de aumento celular

Por lo que:

μ = constante de velocidad de crecimiento

Pero también:

$$\mu N = \frac{dN}{dt} \quad \text{donde:}$$

$N = \# \text{ de células} \times \text{mL}$

$$\mu X = \frac{dX}{dt} \quad \text{donde:}$$

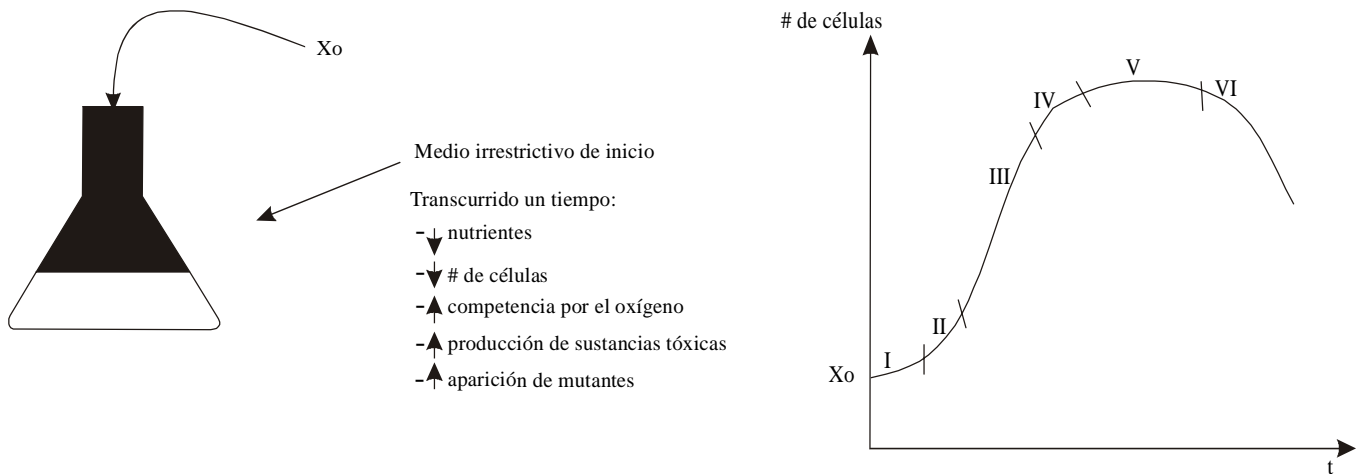
$X = \text{masa celular} \times \text{mL}$

$$\mu Z = \frac{dZ}{dt} \quad \text{donde:}$$

$Z = \text{cantidad de cualquier componente celular} \times \text{mL}$

El valor de μ es suficiente para definir la velocidad de crecimiento de un cultivo.

CURVA DE CRECIMIENTO



Descripción de las fases o etapas de la curva de crecimiento

Fase I: Fase lag o de retraso $V_c = 0$

Adaptación a un medio ambiente de células empobrecidas del arsenal metabólico (enzimas) y de sustratos como resultado de las condiciones desfavorables al final del cultivo. Existe un cese parcial de las funciones metabólicas. Formación de enzimas y metabolitos intermediarios necesarios para la reanimación del crecimiento.

Fase II: Fase de aceleración positiva $V_c = \text{Creciente}$

Las células disminuyen de tamaño, comienzan a utilizarse las reservas, aparecen nuevas funciones.

Fase III: Fase exponencial o de crecimiento logarítmico $V_c = \text{Constante}$

Proceso de catálisis que conlleva al aumento en forma exponencial de la masa bacteriana. Existe un equilibrio de flujo de material. Este proceso se mantiene hasta que:

1. Se agoten los nutrientes (fundamentalmente oxígeno en los aerobios).
2. Se acumulen muchas sustancias tóxicas que inhiban el crecimiento.
3. Se pongan de manifiesto las propiedades más importantes de la célula.

Fase IV: Fase de desaceleración o retardo $V_c =$ Decreciente
 Estadio de deficiencia. Las células viven del metabolismo endógeno, disminuye la velocidad de crecimiento.

Fase V: Fase estacionaria máxima $V_c = 0$
 Cese completo del crecimiento por agotamiento de nutrientes y acúmulo de sustancias tóxicas. Pérdida lenta de células por muerte compensada debido a la formación de células nuevas mediante su crecimiento y división.

Fase VI: Fase de declinación o muerte $V_c =$ Negativa (muerte)
 Aumento de la tasa de mortalidad hasta un nivel sostenido. Persiste un número pequeño de sobrevivientes por meses o años a expensas de los nutrientes de las que mueren. La célula pierde toda capacidad para los procesos degradativos.

MEDICIÓN DEL CRECIMIENTO

Para determinar la velocidad del crecimiento microbiano puede utilizarse:

1. La medida de la masa celular.
2. La medida del número de células.

Predicción de la masa celular

1. Se efectúa determinando el peso seco de las bacterias en un volumen fijo del cultivo, pero requiere mucho tiempo y es poco sensible.
2. Por absorbancia: cantidad de luz refractada por una suspensión celular; se define como el logaritmo del cociente entre intensidad de luz incidente (I_0) sobre la transmitida (I):

$$A = \log \frac{I_0}{I}$$

Esta se mide por espectrofotometría o con un nefelómetro.

Medición del número de células

1. Se realiza en cámaras de recuento mediante microscopia.
2. Mediante el contador electrónico de Coulter.
3. Por recuento en placa: diluciones de una población bacteriana son sembradas en medios convenientes, se cuenta el número de colonias crecidas después de la incubación y se multiplica el número de colonias por el factor de dilución; es llamado recuento viable y resulta el método más sensible para la determinación del número de bacterias.

CRECIMIENTO SINCRÓNICO

Hasta ahora se ha descrito el modelo de crecimiento poblacional. Para lograr información sobre el crecimiento de bacterias individuales debe recurrirse a los cultivos sincrónicos, células que se encuentren todas en la misma etapa del ciclo de multiplicación. Estos cultivos pueden lograrse mediante técnicas:

1. *Inducidas*: por manipulación de las condiciones ambientales (cambios de temperaturas o suministrando nutrientes en la fase estacionaria).
2. *Seleccionadas*: separación física de células (filtración diferencial o centrifugación).

CULTIVO CONTINUO DE LOS MICROORGANISMOS (MANTENIMIENTO DE LA FASE EXPONENCIAL)

Los cultivos que han permitido el estudio de la curva de crecimiento bacteriano son discontinuos o cultivos batch, donde los nutrientes no se renuevan y la fase exponencial se manifiesta durante unas pocas generaciones; precisamente esto se puede lograr mediante un sistema de cultivo continuo, añadiendo medio fresco constantemente y eliminando el exceso, de manera que el volumen del recipiente se mantenga constante. La velocidad de adición de medio fresco determina la velocidad del cultivo; este sistema se encuentra autorregulado por la adición de uno de los nutrientes esenciales al microorganismo.

Esto se controla con :

1. *Quimiostatos*: la velocidad de crecimiento está ajustada por la velocidad de flujo.
2. *Turbidostatos*: controla el flujo y la velocidad de crecimiento mediante un dispositivo óptico que mide la absorbancia.

Aplicación

1. Son una fuente constante de células en fase exponencial de crecimiento.
2. Permiten el crecimiento continuo con una concentración muy baja del sustrato.

Esto ha permitido, entre otros, estudios tales como: la medida precisa de la frecuencia de mutaciones en las bacterias, cambios evolutivos en las poblaciones bacterianas y cinética de inducción de una enzima inducible a concentraciones muy bajas del inductor.

RESUMEN

El cultivo es el procedimiento mediante el cual se promueve el crecimiento de los microorganismos, al proporcionarles las condiciones ambientales adecuadas: nutrientes, pH, temperatura, aereación, humedad, presión hidrostática, presión osmótica y radiación.

La provisión de nutrientes para el crecimiento de un organismo se denomina nutrición y los nutrientes, de acuerdo con su papel en el metabolismo, se clasifican de la siguiente forma: fuente de carbono, fuente de nitrógeno, azufre y fósforo, elementos trazas y vitaminas.

El crecimiento de los microorganismos puede estar influido por diferentes factores, tanto nutricionales como físicos. Además, debe haber una fuente de energía que establezca la fuerza motriz protónica y que permita la síntesis macromolecular. Los modos principales de generar energía metabólica son: fermentación, respiración y fotosíntesis.

Para estudiar los microorganismos hay que tener presente dos aspectos fundamentales: el cultivo y el aislamiento del organismo en cultivo puro. Ambos aspectos son básicamente iguales para el estudio de los virus, las bacterias, los hongos, los helmintos y los protozoos.

El crecimiento se describe como el aumento ordenado de todos los componentes químicos de un organismo, puede representarse mediante una expresión matemática y se expresa mediante una curva, la curva de crecimiento, que consta de los siguientes pasos:

- Fase I $V_c=0$
- Fase II V_c creciente
- Fase III V_c constante
- Fase IV V_c decreciente
- Fase V $V_c=0$
- Fase VI V_c negativa

Esta velocidad de crecimiento poblacional puede medirse mediante:

- Masa celular (peso seco y absorbancia).
- Número de células (microscopía, contador de Coulter, recuento en placa).

El crecimiento individual se puede realizar recurriendo a crecimientos sincrónicos (inducidos o seleccionados), esto se logra mediante cultivos continuos (añadir medio fresco de

forma continua) y controlado por quimiostatos y turbidostatos, su aplicación es muy útil; por ejemplo: son fuente constante de células en fase exponencial y con una baja concentración de sustrato puede alcanzarse, lo que permite estudiar la frecuencia de mutaciones, cambios evolutivos y cinética de inducción de una enzima a concentraciones bajas del inductor.

BIBLIOGRAFÍA

- Creager JG, Black JG, Davison VE. Instructor's Edition. Microbiology. Principles and Applications. USA: Prentice-Hall Inc, 1990.
- Frobischer M. Microbiología. Madrid: Salvat Editores SA, 1969.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 15ta ed. México D.F.: Ed. El Manual Moderno, 1996.
- Pelczar MJ, Reid RD. Microbiología. Madrid: Ediciones del Castillo SA, 1966.
- Prescoh LM, Harley JP, Klein DP. Microbiology. 2nd ed. USA: Wmc. Brown Publishers, 1993.
- Stanier RY, Adelberg EA, Ingraham JL. Microbiología. 4ta ed. Barcelona: Editorial Reverté SA, 1984.



Genética microbiana

Raquel de los A. Junco Díaz
Carlos M. Rodríguez Pérez

INTRODUCCIÓN

La genética es la ciencia que define y analiza la herencia o la constancia y cambio de las funciones fisiológicas que constituyen las propiedades de los organismos. La unidad de la herencia es el gen, segmento de ADN que contiene en su secuencia de nucleótidos, información para una propiedad bioquímica o fisiológica específica. Las dos funciones esenciales del material genético son la replicación y la expresión. El material genético debe replicarse de una forma perfecta, de manera que la progenie herede todos los determinantes genéticos específicos (el genotipo) de los progenitores. La expresión del material genético específico bajo un conjunto particular de condiciones de crecimiento determina las características observables (fenotipo) del organismo. El fenotipo está constituido por las propiedades estructurales y fisiológicas colectivas de una célula o de un organismo. La base química para la variación en el fenotipo es un cambio en el genotipo, o una alteración en la secuencia del ADN dentro de un gen, o en la organización de los genes.

La genética microbiana tradicional se apoya, en gran parte, en la observación del crecimiento microbiano. Las bacterias tienen pocos rasgos estructurales o de desarrollo que puedan ser observados fácilmente, pero poseen una vasta disposición de capacidades bioquímicas y patrones de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos o a los bacteriófagos.

La variación fenotípica se ha estudiado basada en la capacidad de un gen para permitir la proliferación en condiciones de selección; por ejemplo, una bacteria que contiene un gen que le confiere resistencia a la ampicilina, puede distinguirse de una bacteria que carece del gen, por su crecimiento en presencia del antibiótico, el cual sirve como agente de selección. Nótese que la selección del gen requiere su expresión, la cual, en condiciones apropiadas, puede ser observada a nivel de fenotipo.

La genética microbiana ha descubierto que los genes están constituidos por ADN, observación en la que descansa la biología molecular. Investigaciones subsecuentes sobre las bacterias, revelaron la presencia de enzimas de restricción que rompen el ADN en sitios específicos, dando origen a fragmentos de restricción de ADN. Se han identificado plásmidos como elementos genéticos pequeños con capacidad de replicación independiente en bacterias y en levaduras.

ORGANIZACIÓN DEL GENOMA

El cromosoma bacteriano es una molécula circular de ADN que funciona como un elemento genético autorreplicable (replicón). En algunas cepas de *Escherichia coli*, el cromosoma es solamente el replicón presente en la célula. Otras cepas bacterianas tienen replicones adicionales, tales como plásmidos y bacteriófagos, los cuales a menudo determinan resistencia a agentes antimicrobianos, producción de factores de virulencia u otras funciones. El cromosoma se replica semiconservativamente; cada banda de ADN sirve como molde para la síntesis de su banda complementaria.

ESTRUCTURA DEL ÁCIDO NUCLEICO

Los ácidos nucleicos son grandes polímeros constituidos por unidades nucleótidas que se repiten. Cada nucleótido contiene un grupo fosfato, un azúcar que puede ser pentosa o desoxipentosa y un par de bases púricas o pirimidínicas. La información genética se almacena como una secuencia de bases en el ácido desoxirribonucleico (ADN). En la mayoría de los organismos, la información genética está codificada en el ADN, pero en algunos virus se encuentra en el ARN. Los virus bacterianos (bacteriófagos o fagos) tienen como material genético ADN o ARN.

El ADN (Fig. 8.1) contiene el azúcar D-2-desoxirribosa, las bases púricas son adenina (A) y guanina (G), y las bases pirimidínicas son timina (T) y citosina (C). La mayor parte de las moléculas de ADN son de doble tira, helicoidales y las dos bandas en la hélice son antiparalelas y complementarias. La doble hélice está estabilizada por puentes de hidrógeno, en el centro de la molécula, entre las bases púricas y pirimidínicas sobre la banda complementaria. En cada posición, el par de bases A por dos enlaces de hidrógeno con T ($A = T$) en la banda complementaria o los pares G por tres enlaces de hidrógeno con C ($G \equiv C$). Debido a su complementariedad, la doble cadena de ADN contiene cantidades equimolares de purinas ($A + G$) y pirimidinas ($T + C$), con igual cantidad de A y T, y G igual que C, pero la fracción molar de $G + C$ en el ADN varía ampliamente entre los diferentes microorganismos. La extensión de la secuencia homóloga entre los ADN de diversos microorganismos es el criterio más exacto para determinar cómo ellos están estrechamente relacionados.

El ARN se encuentra con más frecuencia en forma de una tira sencilla. El azúcar que posee es la D-ribosa y la base uracilo (U) reemplaza a la timina del ADN. La forma global de las moléculas de tira sencilla del ARN, se define por hibridización entre secuencias de bases que forman asas o lazos, de manera que las tiras sencillas de ARN asumen una estructura compacta, capaz de expresar la información genética contenida en el ADN. La actividad más general del ARN es comunicar la secuencia de genes del ADN, en la forma de ARN mensajero (ARNm), a los ribosomas. Dentro de los ribosomas, que contienen ARN ribosómico (ARNr), los mensajes son traducidos con ayuda del ARN de transferencia (ARNt), en secuencias de aminoácidos que constituyen las proteínas.

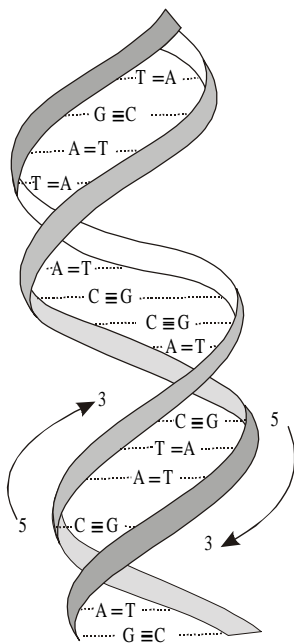


Fig. 8.1. Estructura de doble hélice del ADN.

GENOMA EUCARIÓTICO

En el genoma se encuentra la totalidad de la información genética de un organismo. Casi todo el genoma eucariótico está contenido en dos cromosomas lineales, separados del citoplasma por la membrana nuclear.

En las células eucarióticas diploides, con frecuencia no pueden detectarse mutaciones o cambios genéticos, debido a que la contribución de una copia genética compensa los cambios en la función de su homóloga. Un gen que no logra la expresión fenotípica en presencia de su homólogo, es recesivo; en tanto que un gen que supera el efecto de su homólogo es dominante. Los efectos de las mutaciones pueden discernirse con facilidad en las células haploides, las cuales portan una copia simple de la mayor parte de los genes. Las células de levaduras suelen usarse en investigaciones, ya que pueden conservarse y analizarse en el estado haploide.

Las células eucarióticas contienen mitocondrias y, en algunos casos, cloroplastos, en cuyo interior hay una molécula circular de ADN constituida por unos cuantos genes, cuya

función se relaciona con esos organelos en particular. No obstante, la mayor parte de los genes necesarios para la actividad de estos organelos se encuentra en los cromosomas eucarióticos.

Muchas levaduras contienen un elemento genético adicional que se replica de manera independiente. Esos círculos pequeños de ADN, llamados plásmidos, se hallan frecuentemente en los procariotes.

A diferencia del ADN procariótico, el ADN eucariótico posee grandes cantidades de material repetido que no codifica función alguna.

GENOMA PROCARIÓTICO

El genoma bacteriano varía en tamaño, algunos de los más pequeños pertenecen a parásitos obligados (*Mycoplasma*) y los más grandes, a bacterias capaces de una diferenciación compleja, tal como *Mixococcus*.

En los procariotes no hay membranas que separen los genes del citoplasma como ocurre en los eucariotes y la mayor parte de los genes se encuentran en el cromosoma bacteriano. Con pocas excepciones, los genes bacterianos son haploides y presentan un cromosoma único constituido por una molécula circular de ADN de doble cadena. Sin embargo, han sido hallados cromosomas lineales en bacterias grampositivas como *Borrelia* y *Streptomyces* sp., y un cromosoma lineal y otro circular está presente en la bacteria gramnegativa *Agrobacterium tumefaciens*.

El cromosoma de *E. coli* tiene un largo aproximado de 1,35 mm, cientos de veces más largo que la célula bacteriana, pero el ADN está apretadamente empaquetado en el nucleóide bacteriano. El tiempo requerido para la replicación del cromosoma entero es cercano a los 40 minutos, lo cual es aproximadamente el doble del tiempo más corto de división para esta bacteria. La replicación del ADN tiene que ser iniciada tan frecuente como la célula se divide; así, en bacterias que crecen rápido un nuevo ciclo de replicación cromosómica comienza antes de que el ciclo anterior se haya completado. A este ritmo rápido de crecimiento pueden haber cuatro cromosomas replicándose para formar ocho en el momento de la división celular, lo cual está acoplado con el completamiento de un ciclo de replicación cromosómica. De esta forma, el cromosoma de las bacterias que crecen rápidamente se replica en más de un punto. La replicación del ADN cromosómico en las bacterias es complejo e involucra muchas proteínas diferentes.

Muchas bacterias contienen genes adicionales en los plásmidos. Los círculos de ADN (cromosoma y plásmidos), que contienen información genética necesaria para su propia replicación, se denominan *replicones*.

Los genes esenciales para la proliferación bacteriana están contenidos en el cromosoma, y los plásmidos portan genes relacionados con funciones especializadas, por ejemplo, la resistencia a antibióticos transmitidas por los plásmidos.

Los transposones son elementos genéticos que contienen la información necesaria para su emigración de un locus genético a otro. Los transposones simples sólo contienen información genética para insertación y los transposones complejos poseen genes para funciones especializadas, como la resistencia a los antibióticos, y están flanqueados por secuencias para inserción. Al contrario de los plásmidos, los transposones no contienen la información genética necesaria para su propia replicación. La selección de transposones depende de su replicación como parte de un replicón. La identificación o la exploración genética de los transposones se logra por selección de la información genética especializada (normalmente, resistencia a un antibiótico) que ellos poseen.

GENOMA VIRAL

Los virus son parásitos obligados intracelulares capaces de sobrevivir, pero no de proliferar, en ausencia de una célula huésped. La replicación del genoma viral depende de la energía metabólica y de la maquinaria sintetizadora de macromoléculas del hospedero. Con

frecuencia esta modalidad de parasitismo genético causa debilitamiento o muerte de la célula hospedera. Por tanto, la propagación con éxito del virus requiere:

1. Una forma estable que le permita sobrevivir en ausencia de su hospedero.
2. Un mecanismo para invadir las células.
3. La información genética necesaria para la replicación de componentes virales dentro de la célula.
4. La información adicional para el ensamblaje de los componentes virales y la liberación de los virus formados, al exterior celular.

Por lo común, se hacen distinciones entre los virus relacionados con los eucariotes y aquellos que infectan a los procariotes; estos últimos virus se denominan *bacteriófagos*.

La molécula del ácido nucleico del bacteriófago está rodeada por una cubierta de proteínas. El ácido nucleico del fago muestra una variabilidad considerable. Muchos de los fagos contienen ADN de doble tira, otros ARN de tira sencilla y algunos más poseen ADN de tira sencilla. Muchos fagos contienen estructuras especializadas tipo jeringuilla, que se adhieren a receptores de la superficie celular e inyectan el ácido nucleico del fago a la célula hospedera (Fig. 8.2).

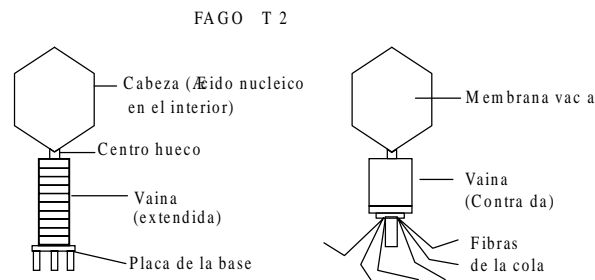


Fig. 8.2. Diagramas del fago T2 basados en observaciones de microfotografía electrónica.

REPLICACIÓN DEL ADN

Durante la replicación cada banda helicoidal del ADN sirve como un molde para la síntesis de una nueva banda complementaria. Cada molécula de doble cadena de ADN hija contiene una banda de polinucleótido vieja y una banda nueva sintetizada. Este tipo de replicación del ADN se denomina *semiconservativo*.

ADN EUCARIÓTICO

La replicación del ADN en los eucariotes comienza en varios puntos de crecimiento a lo largo del cromosoma lineal. La replicación exacta de los extremos del cromosoma lineal, requiere actividades enzimáticas diferentes de las funciones normales relacionadas con la replicación del ADN. Los eucariotes han desarrollado una maquinaria especializada, conocida como huso, que atrae a los cromosomas hijos para formar núcleos nuevos, separados por el proceso de mitosis. Una división más extensa de los núcleos por meiosis, divide en dos el número cromosómico de las células diploides para formar células haploides. La agregación apropiada de cromosomas durante las divisiones reductivas de la meiosis es un factor importante en el mantenimiento de la estructura cromosómica dentro de una especie. Con frecuencia, las células haploides son gametos. La formación de gametos seguida por su fusión para formar cigotos diploides, es el origen primario de la variabilidad genética por recombinación en los eucariotes.

ADN BACTERIANO

La replicación del ADN cromosómico en las bacterias comienza en un sitio específico del cromosoma llamado *locus ori*, una región del ADN que se plantea está unida a la membrana celular y procede bidireccionalmente desde el punto de origen hasta que el proceso se completa. Cuando la bacteria se divide por fisión binaria después de completada la replicación del ADN, los cromosomas replicados se dividen en cada una de las células hijas. Esas características de la replicación del ADN durante el crecimiento bacteriano cumple los requerimientos del material genético para ser reproducido perfectamente y ser heredado por cada célula hija en el momento de la división celular.

TRANSPOSONES

Son segmentos de ADN que pueden moverse de un sitio a otro en una molécula de ADN o a una molécula diferente de ADN. El proceso se denomina *transposición* y ocurre por un mecanismo que es independiente de la recombinación generalizada. Los transposones son elementos genéticos importantes ya que ellos causan mutaciones, mediadas por reordenamiento genómico, las cuales funcionan como regiones portátiles de homología genética y adquieren nuevos genes, así como contribuyen a su diseminación en las poblaciones bacterianas. La inserción de un transposón a menudo interrumpe la secuencia lineal de un gen y lo inactiva. Los transposones desempeñan su mayor rol causando supresiones, duplicaciones e inversiones de segmentos de ADN, así como fusiones entre los replicones. Los transposones no son elementos genéticos autorreplicables; sin embargo, deben integrarse en otro replicón para mantener la estabilidad en los genomas bacterianos.

La mayoría de los transposones comparten un número de rasgos comunes. Cada transposón codifica las funciones necesarias para su transposición, incluyendo la enzima transposasa que interactúa con secuencias específicas al final del transposón. Durante la transposición se duplica una secuencia corta del ADN blanco y el transposón se inserta directamente entre la secuencia repetida. La longitud de esta duplicación corta varía, pero es característica para cada transposón. Se han reconocido dos tipos de transposición. La excisión de un transposón a partir de un sitio donante seguido por su inserción en un sitio blanco, se denomina *transposición no replicativa*. Si el transposón se replica en un sitio donante y una copia se inserta en el sitio blanco, el proceso se nombra *transposición replicativa*. El proceso de transposición replicativa puede involucrar la formación de una simple y cointegrada molécula circular de ADN que consta de dos replicones unidos con copias del transposón en una secuencia alternativa.

La mayoría de los transposones en las bacterias pueden ser separados dentro de tres clases principales. Secuencias de inserción y transposones afines relacionados comprenden la primera clase. Las secuencias de inserción son las más simples en estructura y codifican solamente las funciones necesarias para la transposición. La segunda clase de transposón comprende de la gran familia homóloga TnA. Todos los miembros de la familia codifican tanto para las funciones transposasa y resolvasa. Ejemplos bien conocidos de esta familia incluyen el transposón de resistencia a la ampicilina Tn3 y Tn1000 encontrados en el plásmido F. La familia TnA tiene un lugar importante en la historia de la microbiología médica. El desarrollo de resistencia de alto nivel a la ampicilina en *Haemophilus influenzae* y *Neisseria gonorrhoeae* durante la década de 1970, limitó severamente la utilidad de la ampicilina para el tratamiento de la gonorrea y las infecciones por *Haemophilus* en áreas donde tales cepas se convirtieron en prevalentes, lo que fue causado por la diseminación de los determinantes de resistencia a la ampicilina de los transposones TnA en plásmidos de *Enterobacteriaceae* a plásmidos de *Haemophilus* y *Neisseria*.

La tercera clase de transposón consiste del bacteriófago Mu y fagos moderados relacionados. El genoma completo del fago funciona como un transposón y la replicación del ADN del fago ocurre por transposición vegetativa durante el crecimiento vegetativo. La integración del profago puede ocurrir en diferentes sitios en el cromosoma bacteriano y a menudo causa mutaciones. Por esta razón Mu y otros fagos relacionados son llamados, en ocasiones, *fagos mutantes*.

Una cuarta clase de transposones, descubiertos en bacterias grampositivas y representados por Tn917, consta de transposones conjugativos y que son completamente diferentes de los anteriormente descritos. Estos transposones no generan una duplicación de la secuencia blanco en la cual se insertan, y en las bacterias grampositivas, la cepa hospedero que porta el transposón puede actuar como un donante conjugante. La bacteria receptora no necesita estar estrechamente relacionada con la bacteria donadora. El transposón es extraído desde el cromosoma del donante y transmitido por conjugación al receptor, mientras se integra fortuitamente en el cromosoma. Tn917 codifica resistencia a la tetraciclina, pero otros transposones conjugativos mayores pueden codificar resistencia antibiótica adicional. Los transposones conjugativos parecen ser una de las mayores causas de diseminación de la resistencia a antibióticos en las bacterias grampositivas.

Las bacterias coleccionadas durante la era preantibiótica contenían muchos plásmidos, pero usualmente carecían de determinantes de resistencia. Muchos de los plásmidos R de aislamientos clínicos comunes pertenecen a los mismos grupos de incompatibilidad de los plásmidos encontrados previamente; pero ellos, además, determinan resistencia a múltiples antibióticos. La estrecha relación entre sus replicones proveen una fuerte evidencia de que muchos plásmidos R comunes evolucionaron de plásmidos viejos por adquisición de determinantes de resistencia. Algunos de los plásmidos de resistencia a múltiples antibióticos tienen transposones individuales con diferentes determinantes de resistencia; otros poseen transposones de resistencia múltiple situados en sitios separados y otros contienen transposones complejos de resistencia híbrida formados por integración de un transposón en otro.

El uso terapéutico de antibióticos y su incorporación en la alimentación animal proporciona ventajas selectivas para las bacterias con plásmidos R, mientras que la conjugación, la transformación y la transducción facilitan la vía para la diseminación de los plásmidos R en y entre las especies bacterianas. Después que un plásmido que porta un transposón es introducido en una nueva bacteria hospedera, el transposón y sus determinantes pueden saltar dentro del cromosoma o plásmidos nativos del nuevo hospedero. Por lo tanto, la estabilidad de la movilización del plásmido en un nuevo hospedero bacteriano no es esencial para la persistencia de los determinantes genéticos situados en un transposón.

PLÁSMIDOS

Los plásmidos son replicones que se mantienen como elementos genéticos distintos, extracromosómicos en las bacterias. Por lo general, son mucho más pequeños que el cromosoma bacteriano, codifican rasgos que no son esenciales para la viabilidad bacteriana y se replican independientemente del cromosoma. La mayoría son moléculas de doble cadena de ADN, circular, aunque se han demostrado plásmidos lineales en *Borrelia* y *Streptomyces*. Los plásmidos estrechamente relacionados o idénticos han demostrado incompatibilidad; no pueden mantenerse de forma estable en la misma bacteria hospedero. La clasificación de los plásmidos está basada en la incompatibilidad o en el uso de ensayos específicos de ADN en pruebas de hibridación para identificar secuencias de nucleótidos que son característicos de replicones específicos de plásmidos. Algunos plásmidos hibridizados contienen más de un replicón.

Los plásmidos conjugativos codifican funciones que promueven la transferencia del plásmido de una bacteria donante a otra receptora, pero los plásmidos no conjugativos no lo hacen. Los plásmidos conjugativos que además promueven la transferencia del cromosoma bacteriano de una bacteria donante a otra receptora, se denominan *plásmidos fértiles*. Los grandes plásmidos (más de 40 kilobases de pares) son a menudo conjugativos, tienen un pequeño número de copias (de una a varias por cromosoma), codifican para todas las funciones requeridas para su replicación y se reparten por sí mismos entre las células hijas durante la división celular de la misma forma que el cromosoma bacteriano. Los plásmidos más pequeños que 7,5 kilobases de pares son usualmente no conjugativos, tienen un alto número de copias (típicamente 10-20 por cromosoma), cuentan con su hospedero bacteriano y suministran algunas funciones requeridas para su replicación, además, son distribuidos al azar entre las células hijas durante la división celular.

Muchos plásmidos controlan propiedades médicamente importantes de bacterias patogénicas, incluyendo la resistencia a uno o varios antibióticos, producción de toxinas y síntesis de estructuras de la superficie celular requeridas para la adherencia o colonización. Los plásmidos que determinan resistencia a los antibióticos son a menudo llamados plásmidos R (o factores R). Ejemplos de toxinas codificadas por plásmidos incluyen: las enterotoxinas termolábiles y termoestables de *E. coli*, la toxina exfoliativa de *Staphylococcus aureus* y la toxina tetánica de *Clostridium tetani*. Algunos plásmidos están ocultos y no tienen efectos reconocibles sobre las células bacterianas que los hospedan. La comparación de perfiles de plásmidos es un método útil para medir la posible relación de aislamientos clínicos individuales de una especie bacteriana particular para estudios epidemiológicos.

BACTERIÓFAGOS

Los bacteriófagos (virus bacterianos, fagos) son agentes infecciosos que se replican como parásitos obligados intracelulares en las bacterias. Las partículas de fago extracelulares son metabólicamente inertes y consisten, sobre todo, de proteínas más ácido nucleico (ADN o ARN, pero no ambos). Las proteínas de la partícula del fago forman una capa protectora (cápside) que rodea el ácido nucleico del genoma apretadamente empaquetado. El genoma del fago consta de ADN de doble cadena o ADN o ARN de una sola cadena, y al igual que en los plásmidos, codifica las funciones requeridas para su replicación en la bacteria; pero a diferencia de los plásmidos codifica, además, las proteínas de la cápside y proteínas no estructurales que requiere para su ensamblaje. Se han descrito diferentes tipos morfológicamente distintos de fagos, que incluyen: poliédricos, filamentosos y complejos. Los fagos complejos tienen una cabeza poliédrica unida a una estructura proteica helicoidal (la cola), cuyo conjunto le hace adoptar una forma que recuerda al espermatozoide humano.

La infección se inicia por la adsorción del fago a los receptores específicos sobre la superficie de la bacteria hospedero susceptible. Las cápsides permanecen en la superficie celular, y el genoma ADN o ARN penetra en la célula. A causa de que la infectividad del ADN o ARN genómico es mucho menor que la del virus maduro, hay un tiempo inmediatamente después de la infección que se llama *período de eclipse*, durante el cual el fago infeccioso intracelular no puede ser detectado. Los fagos infectantes ARN o ADN se replican para producir nuevas copias de genomas del fago, y se producen las proteínas específicas. En la mayoría de los fagos el ensamblaje de la progenie ocurre en el citoplasma, y la salida ocurre por lisis celular. En contraste, los fagos filamentosos se forman en la envoltura celular y son liberados sin la muerte de la célula hospedero. El período de eclipse finaliza cuando la progenie infecciosa intracelular aparece.

Los fagos se clasifican en dos grandes grupos: virulentos y temperantes. El crecimiento de los *fagos virulentos* en una bacteria susceptible destruye las células hospederas. La infección de una bacteria susceptible por *fagos temperantes* puede tener dos desenlaces: crecimiento lítico o lisogenia. El *crecimiento lítico* de los bacteriófagos virulentos y temperantes es similar, conduciendo a la producción de una progenie de fagos y muerte de la bacteria hospedera. La *lisogenia* es un tipo específico de infección viral latente, en la cual el genoma del fago se replica como un profago en la célula bacteriana. En la mayoría de las bacterias lisogénicas los genes que se requieren para el desarrollo de un fago lítico no están expresados y no ocurre la producción de fagos infecciosos. Además, las células lisogénicas son inmunes a la superinfección por el tipo de virus que hospedan como profago. El estado físico del profago no es idéntico para todos los virus temperantes. Por ejemplo, el profago del bacteriófago λ en *E. coli* está integrado en un sitio específico dentro del cromosoma bacteriano y se replica junto a él; mientras que el profago del bacteriófago P1 de *E. coli* se replica como un plásmido extracromosómico.

Algunos fagos temperantes contienen genes para características bacterianas que no están relacionadas con el desarrollo de fagos líticos o estado lisogénico, y la expresión de tales genes se denomina *fago conversión* (o conversión lisogénica). Ejemplos de fago conversión que son importantes para la virulencia microbiana incluyen: la producción de la toxina diftérica por *Corynebacterium diphtheriae*, la toxina eritrogénica por *Streptococcus pyogenes* (estreptococo β hemolítico del grupo A), la toxina botulínica por *Clostridium*

botulinum y toxinas similares a la de Shiga por *E. coli*. En cada uno de estos ejemplos, el gen que codifica la toxina bacteriana está presente en el genoma del fago temperante. La especificidad de los antígenos O en *Salmonella* puede, además, estar controlada por fago conversión. La fagotipia es un método particular de medir la susceptibilidad de cepas bacterianas a bacteriófagos específicos. Los patrones de susceptibilidad a un grupo de fagos proporciona información acerca de la posible relación de aislamientos clínicos individuales. Esta información es particularmente útil en investigaciones epidemiológicas.

EXPRESIÓN DEL GEN

La información genética codificada en el ADN es expresada por la síntesis de ARNs específico y proteínas, y la información fluye desde el ADN al ARN a la proteína. La síntesis del ARN dirigido por el ADN se llama *transcripción*. Ya que las bandas de doble hélice del ADN son antiparalelas y complementarias, sólo una de las dos bandas puede servir como molde para la síntesis de una molécula específica de ARN mensajero. Los ARN mensajeros (mARNs) transmiten información desde el ADN y cada ARN mensajero funciona como un molde para la síntesis de una o más proteínas específicas. El proceso por el cual la secuencia de nucleótidos de una molécula de ARN mensajero determina la secuencia primaria de los aminoácidos de una proteína se llama *traslación*. Los ribosomas, complejo de ARNs ribosomal (rARNs) y diferentes proteínas ribosómicas, trasladan cada ARN mensajero en la secuencia polipeptídica correspondiente con la ayuda del ARN específico de transferencia (tARNs), las sintetasas aminoacídicas de transferencia y factores de iniciación y de elongación.

La expresión de los determinantes genéticos en las bacterias involucran un flujo unidireccional de información desde el ADN hasta el ARN a la proteína. En los bacteriófagos tanto el ADN como el ARN pueden servir como material genético. Durante la infección de la bacteria por bacteriófagos ARN, las moléculas ARN sirven como molde para la replicación del ARN y como ARN específico mensajero. Estudios realizados con retrovirus, grupo de virus animal, revela que la molécula de ADN puede ser sintetizada a partir del molde ARN por enzimas designadas como polimerasa del ADN dependiente del ARN (transcriptasa inversa). Esta reversión de la dirección usual del flujo de la información genética, desde el ARN al ADN en lugar del ADN al ARN, es un mecanismo importante para facilitar la información de los retrovirus para ser codificada en el ADN y volverse incorporado dentro de los genomas de las células animales.

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL GEN

Las propiedades fenotípicas de las bacterias están determinadas por sus genotipos y sus condiciones de crecimiento. Para las bacterias en cultivo puro, los cambios en las condiciones de crecimiento a menudo resultan en adaptaciones fisiológicas predecibles en todos los miembros de la población. Típicamente, los productos esenciales del gen son elaborados en cantidades que permiten el crecimiento más rápido en un ambiente dado, mientras que los productos necesarios en circunstancias especiales son elaborados solamente cuando se requieran.

Las adaptaciones fisiológicas se asocian casi siempre con cambios en las actividades metabólicas. El flujo de metabolitos a través de vías bioquímicas particulares puede ser controlado, tanto por la regulación de la síntesis de enzimas específicas, como por la alteración de las actividades de las enzimas existentes.

La regulación específica implica a un gen o grupo de genes involucrados en un proceso metabólico particular. La inducción y la represión le facilita a las bacterias controlar la producción de productos específicos del gen en respuesta a signos apropiados. Generalmente las enzimas catabólicas son inducidas cuando el sustrato para una vía determinada está presente en el medio de crecimiento obtenido, mientras que las enzimas biosintéticas son reprimidas. Las enzimas que participan en una única vía bioquímica, a menudo ocupan posiciones adyacentes sobre el cromosoma bacteriano y son inducidas o reprimidas de forma coordinada. Ellas forman un *operón*, un grupo de genes contiguos que son transcritos como una unidad única y trasladados para producir los correspondientes productos del gen.

La organización dentro de un operón es una estrategia importante para la regulación coordinada de la expresión de los genes en las bacterias. Los operones que pueden ser inducidos o reprimidos son controlados por la unión de proteínas regulatorias específicas con secuencias particulares de nucleótidos que funcionan como sitios regulatorios en el operón. La comparación de las secuencias de aminoácidos de muchas de esas proteínas regulatorias diferentes, mostró que pueden ser agrupadas juntas en familias de reguladores (ejemplo: la familia de proteínas *lysR*) que quizá se han desarrollado a partir de genes antepasados comunes. Los miembros de la familia *lysR* incluyen reguladores de fenómenos diversos, tales como: el metabolismo de la lisina, la cisteína y la metionina en *E. Coli*, y la represión del hierro en *V. cholerae*.

Simultáneamente, la regulación global altera la expresión de un grupo de genes y operones, llamados colectivamente un *regulón*, que están controlados por el mismo signo regulatorio. La regulación global determina la respuesta de la bacteria a nutrientes básicos, como son: carbón, nitrógeno o fosfato, reacciones de tensión, tales como el daño del ADN o choque térmico y síntesis de factores de virulencia específicos por los patógenos, durante el crecimiento en sus animales hospederos.

La cantidad de una proteína específica en una célula bacteriana puede variar desde ninguna hasta miles de moléculas. Este amplio rango está determinado, a menudo, por la acción combinada de diferentes mecanismos regulatorios que afectan la expresión del gen estructural correspondiente. La regulación es alcanzada determinando con qué frecuencia un gen es transcrito a un ARN mensajero funcional, con qué eficiencia el ARN mensajero es trasladado a una proteína y cuán rápidamente el ARN mensajero es degradado, cuán rápidamente la proteína se transfiere, y si la actividad de la proteína puede ser alterada por efectos alostéricos o modificaciones covalentes.

MUTACIÓN Y SELECCIÓN

Las mutaciones son cambios hereditarios en el genoma. Las mutaciones espontáneas en las bacterias individuales son raras y, por lo general, ocurren con una frecuencia de 10^{-8} a 10^{-6} . Algunas mutaciones causan cambios en las características fenotípicas; la ocurrencia de tales mutaciones puede ser inferida de los efectos que ellas producen. En genética microbiana los organismos de referencia específicos son designados como cepas tipo salvaje, y las descendientes que tienen mutaciones en sus genomas se llaman *mutantes*. Por lo tanto, las mutantes están caracterizadas por las diferencias heredadas entre ellas y sus cepas tipo salvaje progenitoras.

Las mutaciones pueden ocurrir por sustituciones, supresiones, inserciones y reordenamientos de bases. Las sustituciones de bases pueden ser causadas por apareamiento erróneo entre bases complementarias durante la replicación.

Muchas sustituciones de bases escapan a la detección a nivel fenotípico, debido a que no alteran en forma significativa la función del producto genético. Por ejemplo, las mutaciones que sustituyen un aminoácido por otro, pueden ocurrir sin efecto fenotípico discernible.

Las consecuencias de las mutaciones por supresión o inserción son graves debido a que pueden alterar de modo drástico la secuencia de aminoácidos de los productos genéticos. La inserción o la supresión de un nucleótido, interrumpen el orden de traducción y, por tanto, se introduce una secuencia proteínica enteramente diferente, distal al aminoácido del codón alterado por la mutación.

Otras mutaciones pueden invertir secuencias prolongadas de ADN o transponer tales secuencias a nuevos locus. La comparación de mapas genéticos de cepas bacterianas relacionadas, ha mostrado que tales reordenamientos pueden ser constantes en las poblaciones naturales.

DETECCIÓN DE MUTANTES FENOTÍPICAS

Los medios de cultivo diferenciales y selectivos son útiles para el aislamiento de mutantes bacterianas. Algunos medios selectivos permiten el crecimiento de mutantes particulares, pero no dejan crecer a cepas tipo salvaje. Las mutantes raras pueden ser aisladas usando

tales medios selectivos. Los medios diferenciales le permiten a las bacterias mutantes y tipo salvaje crecer y formar colonias que difieren en apariencia. La detección de mutantes raras sobre medios diferenciales está limitada por el número total de colonias que pueden ser observadas.

Las mutaciones que inactivan genes esenciales en organismos haploides son, por lo común, letales; pero tales mutaciones potencialmente letales pueden, a menudo, ser estudiadas si su expresión está controlada por manipulación de las condiciones experimentales. Por ejemplo, una mutación que incrementa la termolabilidad de un producto esencial del gen puede prevenir el crecimiento bacteriano a 42 °C, aunque la bacteria mutante pueda todavía crecer a 25 °C. Inversamente, las mutantes sensibles al frío expresan el fenotipo mutante a bajas temperaturas, pero no a altas temperaturas. Las mutaciones sensibles a la temperatura y sensibles al frío son ejemplos de mutaciones condicionales. Una condicional fenotípica letal indica que el gen mutante es esencial para la viabilidad.

MUTACIONES ESPONTÁNEAS E INDUCIDAS

La proporción de mutaciones en las bacterias está determinada por la exactitud de la replicación del ADN, la ocurrencia de daño del ADN y la efectividad de los mecanismos para reparar el ADN dañado.

Para una cepa bacteriana particular bajo condiciones de crecimiento definidas, la proporción de mutaciones para cualquier gen específico es constante y está expresada como la probabilidad de mutación por división celular. En una población de bacterias desarrolladas a partir de un pequeño inóculo, la proporción de mutantes y el tamaño de la población bacteriana aumentan progresivamente. Las mutaciones en las bacterias pueden ocurrir espontánea e independientemente de los métodos experimentales usados para detectarlas.

Los factores ambientales y genéticos afectan la proporción de mutaciones. La exposición de bacterias a agentes mutagénicos causa una proporción de mutaciones que se incrementa, en ocasiones, a diferentes órdenes de magnitud. Muchos agentes físicos y químicos, incluyendo los rayos X y la luz ultravioleta, tienen actividad mutagénica. Los agentes químicos que son carcinogénicos para los animales, con frecuencia son mutagénicos para las bacterias, o pueden ser convertidos por los tejidos animales en metabolitos que son mutagénicos para las bacterias. Las pruebas estandarizadas para detectar mutagenicidad en las bacterias son usadas como procedimientos de selección para identificar agentes ambientales que pueden ser carcinogénicos para los humanos.

La mayoría de las mutaciones son dañinas, y el riesgo de mutaciones adversas para las bacterias individuales debe ser balanceado contra el valor positivo de mutabilidad como un mecanismo para la adaptación de las poblaciones bacterianas a las condiciones ambientales cambiantes.

BASE MOLECULAR DE LAS MUTACIONES

Las mutaciones son clasificadas sobre la base de los cambios estructurales que ocurren en el ADN. Algunas mutaciones están localizadas en segmentos cortos del ADN (por ejemplo, sustituciones de nucleótidos, microsupresiones y microinserciones). Otras mutaciones involucran regiones grandes del ADN e incluyen supresiones, inserciones o reordenamientos de segmentos del ADN.

PRUEBAS DE COMPLEMENTACIÓN

Para determinar si las mutaciones están localizadas en el mismo gen o en genes diferentes, se llevan a cabo las pruebas de complementación con cepas bacterianas parcialmente diploides. Estas pruebas fueron originalmente llamadas pruebas "cis-trans", y el término cistrón es empleado algunas veces como sinónimo de gen. Las pruebas de complementación pueden llevarse a cabo e interpretarse aunque las funciones bioquímicas específicas de los productos del gen sean desconocidos.

REVERSIÓN Y SUPRESIÓN

La recuperación de una actividad perdida como consecuencia de una mutación se denomina *reversión fenotípica*, lo cual puede resultar o no de la restitución de la secuencia original del ADN (*reversión genotípica*).

Las mutaciones supresoras son aquellas que no restauran la secuencia exacta de nucleótidos y pueden ser intragénicas o extragénicas. En la *supresión intragénica*, después que una mutación primaria ha cambiado la estructura de una enzima, de modo que su actividad se ha perdido, una segunda mutación, en un sitio diferente en el gen de la enzima, restablece la estructura requerida para la actividad. La *supresión extragénica* es causada por una segunda mutación que ocurre fuera del gen afectado en un principio.

Algunos supresores extragénicos son específicos para genes particulares, otros son específicos para codones y algunos tienen otros patrones de especificidad. Los supresores extragénicos que revierten los efectos fenotípicos de los codones en la cadena terminal han sido bien caracterizados y se ha encontrado que alteran la estructura del ARN de transferencia.

RECOMBINACIÓN DE LAS BACTERIAS

Se define por recombinación al proceso en que tenga lugar la formación de un nuevo ADN a partir de moléculas destruidas, de manera que la información genética procedente de cada molécula de ADN original estará presente en las nuevas. Es un proceso celular esencial, catalizado por enzimas que la célula codifica y regula con un propósito.

La recombinación constituye:

1. Fuente de variabilidad genética.
2. Intercambio físico de segmentos.
3. Valor regulatorio: puede tener como resultado la activación o inactivación de los genes.
4. Una vía de reparación.

En el caso de las bacterias son tres los procesos conocidos que conducen a la formación de un nuevo ADN. En orden cronológico de su descubrimiento, estos procesos son:

1. Transformación.
2. Conjugación.
3. Transducción.

En los organismos eucarióticos, la célula diploide formada por la fusión de dos células sensibles haploides (gametos) se denomina *cigoto*. En las bacterias pueden formarse también cigotos, sólo que no existe fusión de células sin transferencia de parte del material genético de una célula donadora a otra aceptora, aportándole a esta última un estado diploide parcial (formación de un gameto parcial denominado *merocigoto*).

El genoma original de la célula receptora se conoce como *endogenote* y el fragmento de ADN introducido en ella, *exogenote*. El exogenote y endogenote generalmente se aparean (mecanismo parasexual) y recombinan de inmediato después de la transferencia, formándose un ADN recombinante por la integración parcial o total del exogenote; si esto no ocurriera, el exogenote puede persistir y replicarse si dispone de los elementos genéticos necesarios para su propia replicación, de manera que los merocigotos den lugar a un clon de células parcialmente diploides; si carece de esos elementos, persiste, pero no se replica; este fenómeno se ha observado solamente en la transducción y se conoce con el nombre de *transducción abortiva*. Finalmente, el exogenote puede ser degradado por procesos enzimáticos (restricción del hospedador) (Fig. 8.3).

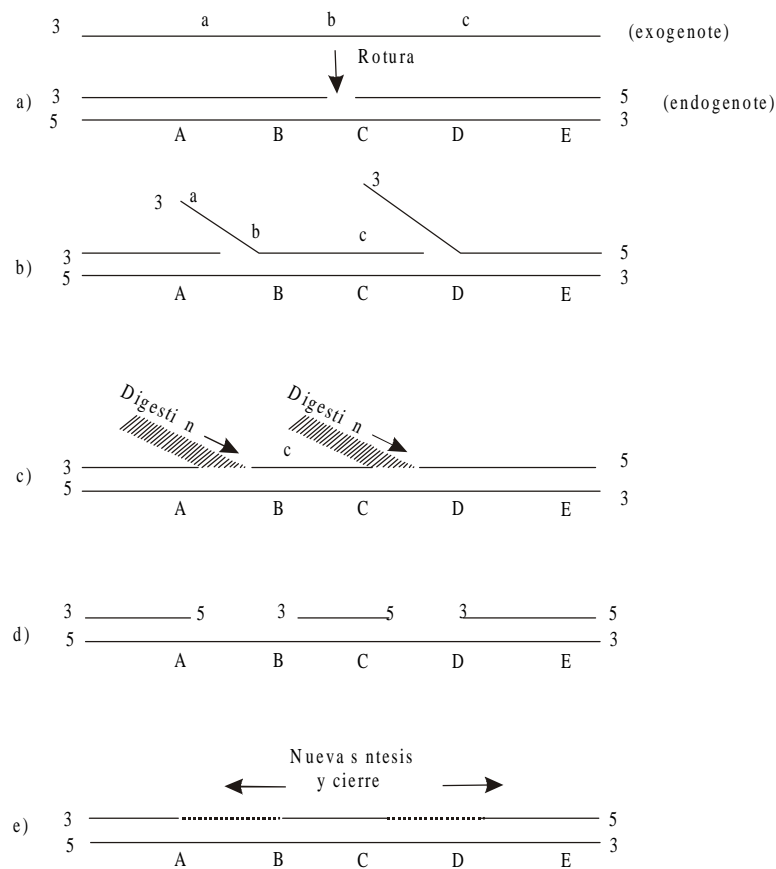


Fig. 8.3. Integración de un exogenote unicatenario o un endogenote bicatenario (ABCDE). a) rotura; b) apareamiento; c) y d) digestión de los extremos por exonucleasas; e) síntesis por polimerasas y cierre por polinucleótido ligasa con formación de una molécula recombinante (ABCDE).

RESTRICCIÓN Y MODIFICACIÓN

La restricción fue descubierta en infecciones bacteriofágicas de *E. coli* K12 y *E. coli* cepa B. La partícula fágica que infecta a la primera y establece una infección productiva, lo hace porque su ADN se ha producido en ese tipo de células. Si ese primer fago infecta a la segunda, el ADN de este resulta extraño y no se produce la infección productiva; ello se debe a la existencia en la célula hospedera de una endonucleasa específica que degrada al ADN extraño. El fenómeno se conoce como *restricción* y la endonucleasa como *enzima de restricción*. Por lo tanto inferimos que el ADN fágico producido en una célula determinada deja de ser un sustrato para la enzima de restricción, es modificado enzimáticamente y queda protegido contra la restricción. La *modificación* es un proceso de metilación de bases en sitios altamente específicos del ADN y que constituyen los puntos de ataque de la enzima de restricción.

INTEGRACIÓN DEL EXOGENOTE Y EL ENDOGENOTE

La recombinación entre exogenote y endogenote ocurre por un proceso de rotura y reunión de las moléculas del ADN paternas. Lo más importante de este proceso, y esencial para su éxito, es la conservación de la secuencia de pares de bases.

TRANSFORMACIÓN

La transformación genética es la transferencia de un fragmento de ADN de un genoma donador a través de la membrana celular receptora y la incorporación de este fragmento en el genoma de esta célula. Puede ser:

1. *Homóloga*: transferencia o transformación de material genético de la misma especie.

2. *Heteróloga*: transferencia o transformación de material genético en especies diferentes.
3. *Horizontal*: transformación heteróloga que ocurre en ambientes naturales.

Este mecanismo de recombinación genética fue descubierto en el *Streptococcus pneumoniae*. Este microorganismo produce colonias lisas (L) (capsuladas y virulentas) que en repetidos subcultivos se tornan rugosas (R) (no capsuladas y no virulentas). Griffith, en 1928, observó que cuando se inoculaban a un ratón células R provenientes de un cultivo liso tipo I junto con células L provenientes de un cultivo tipo II y muertas por el calor, el ratón moría en pocos días y de la sangre de los mismos sólo se podía aislar células lisas tipo II. Se comprobó también que esa propiedad transferida era hereditaria y se denominó *principio transformador*, que en 1944 fue identificado como ADN por O.T. Avery y otros.

El factor limitante en la producción de transformantes es la competencia de la población celular receptora para incorporar ADN transformante.

Estado de competencia natural. Es el estado donde la célula tiene la habilidad de unir e interanalizar ADN exógeno.

Factores críticos que determinan la frecuencia de transformación

1. Tamaño de los fragmentos de ADN.
2. Estado fisiológico de la bacteria receptora.
3. Concentración de ADN.

Se conoce que las células competentes producen una proteína susceptible de ser aislada del medio y utilizada para conferir competencia a otras células, y pudiera ser un componente de la membrana que cataliza la incorporación del ADN a una enzima que degrada algún componente de la superficie celular desenmascarando el receptor para el ADN.

Este mecanismo de recombinación ha sido estudiado en: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria* spp., *Bacillus* spp. y *Escherichia coli* (con altas concentraciones de ion calcio), en los cuales el estado de competencia es regulado en respuesta a señales célula-célula y(o) condiciones nutricionales.

Barreras naturales que inciden en la transformación

1. Sistemas de metilación (modificación)-restricción de células.
2. Superficie celular.
3. Condiciones ambientales.

Existen evidencias experimentales de que tanto el ADN cromosomal como el plasmídico están sujetos a intercambio genético mediante la transformación, y existen estudios desde 1989, basados en la hipótesis de que la transformación puede ser un poderoso mecanismo de transferencia horizontal de genes dentro de las poblaciones naturales y en la especiación y evolución bacteriana.

CONJUGACIÓN

Es la transferencia de material genético en una sola dirección. Implica la unión de dos estirpes bacterianas diferenciadas sexualmente. El elemento genético que dirige la propiedad hereditaria de ser donador se denomina *factor* o *plásmido F* (de fertilidad). La transferencia del genoma bacteriano es una consecuencia secundaria de la transferencia plasmídica y depende de la integración del genoma y el plásmido en la célula donadora.

Plásmidos

Elementos genéticos (ADN) extracromosómicos, circulares, de doble cadena, con peso molecular entre 3×10^6 y 1×10^8 . Pueden contener hasta 100 genes. El contenido en G + C fluctúa entre 44 y 50 %.

Se replican siempre que se encuentren en su forma circular, son sensibles a los colorantes de acridina y a la luz ultravioleta.

Proceso de la conjugación

El proceso de conjugación y transferir una molécula de ADN plasmídico a su pareja de conjugación ocurre en dos etapas:

1. Formación de un puente de conjugación.
2. Paso del ADN plasmídico a través del puente.

Ello se debe a la presencia de unos apéndices especiales llamados *fimbrias conjugativas* (o sexuales) en las células donadoras y a receptores específicos en las receptoras. El paso intercelular de ADN es muy específico y la transferencia de otro material es escasa o nula.

El contacto entre la fimbria de conjugación y el receptor pone en marcha el proceso. Se rompe una cadena de ADN plasmídico y penetra en la cadena receptora, la ADN polimerasa sintetiza una réplica del mismo en la receptora, mientras que la otra permanece en la donadora; a partir de este momento, la cepa receptora adquiere la capacidad de donar el ADN.

Las células que albergan un plásmido F se denominan F^+ y F^- a las que carecen de él. Cuando este plásmido se integra al genoma bacteriano, los clones sucesivos son denominados HFr (alta frecuencia de recombinación); este último proceso es reversible.

Cuando se mezclan células HFr con F^- ocurre transferencia de ADN, pero esta vez, como el plásmido y el genoma están unidos (un solo replicón), a la célula receptora pasa el ADN del plásmido y del genoma celular. Los marcadores del genoma transferidos están en dependencia del sitio de inserción del plásmido en el mismo.

La célula que recibe un plásmido con segmento de ADN genómico se denomina F' y si incluye genes de funciones indispensables, su pérdida produce muerte celular (Figs. 8.4 y 8.5).

Principales grupos de plásmidos

1. Plásmidos R: comprende dos segmentos:
 - a) Factor de transferencia de resistencia.
 - b) Determinantes de resistencia.
 - Confieren resistencia a diferentes agentes antimicrobianos.
 - Factores colicinogénicos: genes que ordenan la síntesis de colicinas; toxinas letales para las bacterias coliformes.
 - Factores sexuales: son los mediadores de la transferencia, el más estudiado es el F.
 - Plásmidos penicilinas de *Staphylococcus aureus*: poseen genes que implican la producción de una penicilinas potente que provoca resistencia a las penicilinas. Difieren de los R en que no se transfieren por conjugación, sino por transducción mediada por fagos.
 - Plásmidos degradantes de *Pseudomonas*: genes plasmídicos los cuales ordenan la síntesis de enzimas que actúan sobre alguna ruta metabólica especial utilizada por estos microorganismos; ejemplos: plásmido del alcanfor, octano, salicilato; son transferibles entre especies de *Pseudomonas* por conjugación.
 - Plásmidos ocultos: moléculas circulares de ADN presentes en casi todas las especies bacterianas que no llevan genes que puedan ser detectados, por ahora, fenotípicamente.

Conjugación en los diferentes grupos bacterianos

Se ha observado este proceso en:

Bacterias gramnegativas: *E. coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Proteus* spp. y *Pseudomonas aeruginosa*.

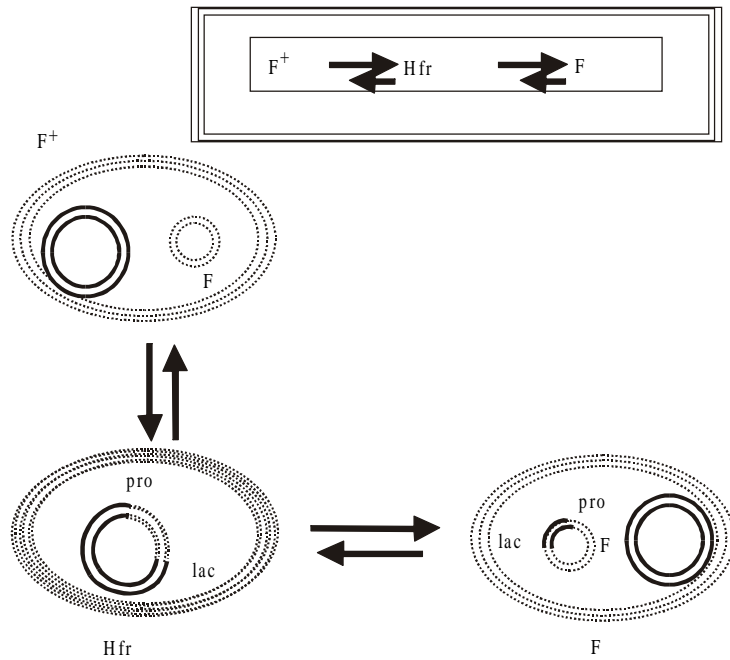
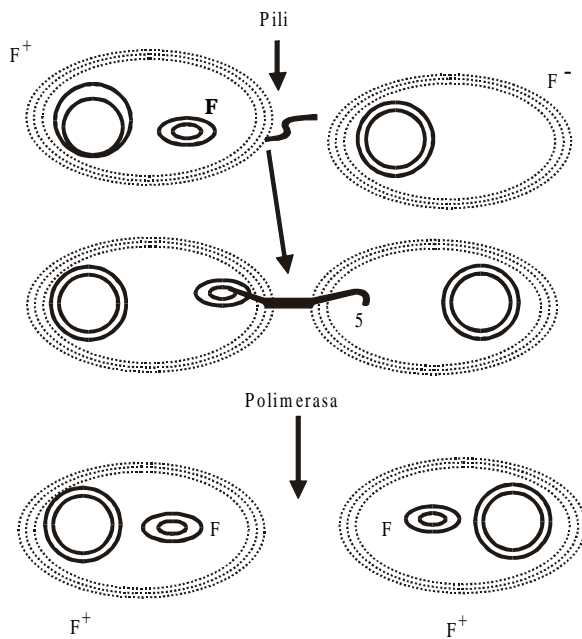


Fig. 8.4. Conjugación: formación de una célula Hfr y F⁺ a partir de una célula F⁺.



Bacterias grampositivas: miembros del género *Streptomyces*.

Fig. 8.5. Recombinación en bacterias: mecanismo de conjugación.

Aplicaciones prácticas de la conjugación

1. Construcción de cepas mutantes.
2. Mapeo de mutaciones.

3. Localización de genes.
4. Estudio de evolución genética: relación filogenética entre especies microbianas.
5. Estudios poblacionales: relaciones entre los microorganismos de diferentes especies en ambientes naturales.

TRANSDUCCIÓN

Es el mecanismo genético mediante el cual un fragmento del genoma bacteriano se incorpora a un virión en formación (fago temperante), de manera que cuando esta partícula viral infecta a otra célula, le inocula parte del material genético del hospedero anterior.

Tipos de transducción

1. *Generalizada*: es aquella en que cualquiera de los genes del genoma bacteriano tiene probabilidades de ser transportado por el fago.
2. *Restringida*: sólo se incorporan los genes contiguos al lugar de inserción del profago.
Fago temperante: es aquel bacteriófago que habitualmente no realiza un ciclo lítico, se reproduce en sincronía con el hospedero y produce clones celulares infectados. Este estado conferido a una célula se denomina lisogenia y el genoma viral presente en ellas se denomina profago.
3. *De alta frecuencia*: ocurre cuando la célula recibe un fago restringido y uno normal, de manera que el resultado de la maduración de ambos determina que el 50 % sea capaz de transducir una propiedad genética.
4. *Abortiva*: tiene lugar cuando existe un fracaso en la integración del exogenote al genoma bacteriano, este persiste pero sin replicarse, de manera que sólo una de las células hijas lo recibe.

En la transducción abortiva de una bacteria his (-) por un gen his (+), el exogenote his (+) produce enzimas para la síntesis de la histidina. Si sembramos esta bacteria en un medio carente de histidina, el cigote crece y se divide, pero el exogenote no se replica, por lo que una de las hijas no recibirá el gen his (+) y continuará dividiéndose mientras le queden enzimas; en cambio, la otra que sí recibe el his (+) seguirá fabricando enzimas; en la siguiente división ocurre el mismo fenómeno. El resultado es la formación de colonias diminutas de crecimiento lento por las his (-) y colonias grandes por las his (+), las primeras son representativas de una transducción abortiva (Fig. 8.6).

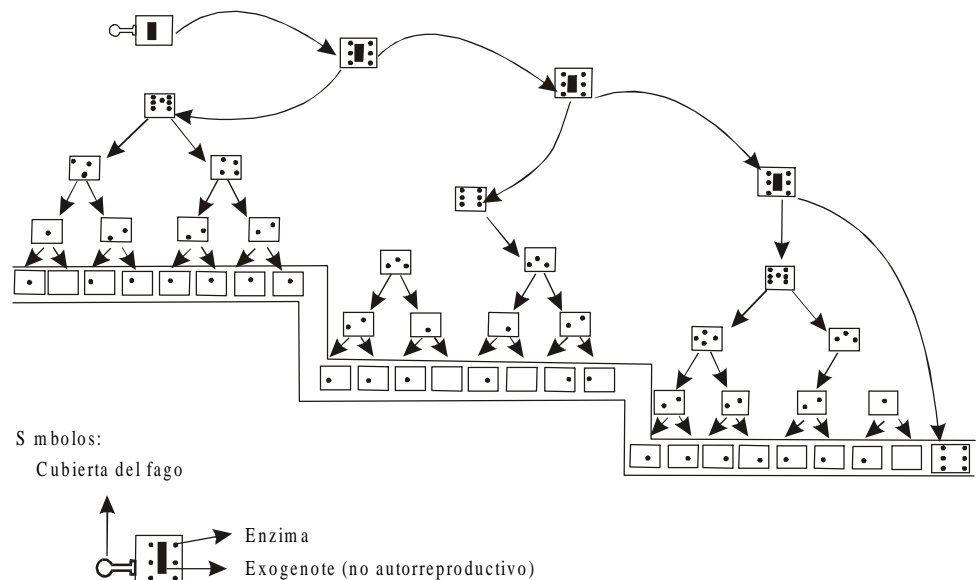


Fig. 8.6. Transducción abortiva: en cada división, sólo una de las células recibe el gen activo. La otra continúa en unas cuantas divisiones celulares hasta que el producto de gen activo (por ejemplo, enzima) es diluido. La siembra de un gen transductante abortivo produce una colonia diminuta, en la cual solamente una célula es capaz de ulterior crecimiento y división. Tomado de: Jawetz E y cols. Manual de Microbiología Médica 14ta ed., 1981.

Conversión fágica. Propiedades importantes de muchas bacterias son reguladas por genes fágicos y se manifiestan en aquellas que se encuentran en estado de lisogenia o infectados por estos fagos, a esto se denomina conversión fágica; ejemplo: producción de toxinas por el *Corynebacterium diphtheriae*, presencia de ciertos componentes antigénicos de la pared de *Salmonella*. Las partículas fágicas que determinan la conversión son defectivas por haber perdido algunos genes propios del fago debido al intercambio génico. La conversión fágica y la transducción de alta frecuencia son semejantes.

La transducción puede observarse en: enterobacterias, *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Bacillus*.

Recombinación en virus bacterianos. Una célula bacteriana puede ser infectada por dos fagos diferentes muy relacionados y que difieran en varios marcadores genéticos. Al finalizar el proceso encontraremos fagos idénticos a los paternos y diversos tipos de recombinación genética.

FUNDAMENTO DE LA INGENIERÍA GENÉTICA

La recombinación de fragmentos de ADN ocurridos por transformación, conjugación o transducción, exige homología de las secuencias entre las bases que conforman las zonas que van a ser intercambiadas, para asegurar que la molécula resultante no se vea alterada. El uso de marcadores detecta la recombinación al ser sustituido un gen salvaje por un mutante o viceversa.

Este intercambio de zonas de ADN homólogas está catalizado por enzimas que dependen del gen Rec A, por ello, aunque es posible el intercambio de genes de forma mecánica por conjugación o transformación en microorganismos de diferentes especies, la aparición de recombinantes sólo ocurre entre donadores y receptores homoespecíficos, es decir, entre organismos relacionados, con la excepción de plásmidos o bacteriófagos integrados a un genoma heteroespecífico.

Artificialmente, tras el descubrimiento de las desoxinucleasas de restricción y el amplio desarrollo de la tecnología bioquímica, se llevó a cabo la recombinación *in vitro* de moléculas de ADN no homólogas, procedentes de microorganismos alejados filogenéticamente, incluso entre procariotas y eucariotas o sintetizados de forma artificial.

Todo esto ha traído como consecuencia la creación de organismos nuevos desde el punto de vista genético y que conservan las características propias codificadas en cada región provenientes de sus ADN integrantes.

Esta tecnología ha dado en llamarse ingeniería genética o ADN recombinante, ofreciendo perspectivas muy prometedoras en el campo de la industria y de la terapéutica.

El rápido avance de la tecnología del ADN recombinante se ha debido con mucho al empleo de las enzimas de restricción; ellas son las responsables de la degradación del ADN extraño que penetra. Se conocen varios tipos de las mismas; señalaremos algunas:

1. *Tipo I*: producen ruptura endonucleolítica en lugares indiscriminados de la doble cadena de ADN.
2. *Tipo II*: producen roturas en lugares específicos con secuencias concretas de 4-6 pares de nucleótidos. Su especificidad es muy elevada y la digestión del ADN por ella permite prever a priori el número y tipo de fragmentos que se van a obtener.

Cada especie bacteriana, e incluso cada cepa, tiene su sistema de restricción particular y con especificaciones diferentes a las de otras cepas.

El cortar moléculas en sitios específicos del ADN y poder unirlos a otros, permite seleccionar genes aislados con propiedades que pueden resultar muy interesantes, ya que permitirá destacar una característica específica que se encontraba dispersa en organismos distintos.

Las técnicas de ADN recombinante permiten seleccionar la región del ADN que contenga un gen del cual se desee estudiar su secuencia o producto proteico elaborado y construir un híbrido con un sistema génico que confiera capacidad de replicación y estabilidad al conjunto en el interior de una célula viva. La obtención de un gran número de copias de una

determinada región del ADN a partir de una copia original se denomina *clonación molecular*, y los genes utilizados para transportar el fragmento a clonar son llamados *vectores*.

Los vectores más utilizados son los virus y los plásmidos, fundamentalmente los últimos por su capacidad de ser transmitidos por transformación, ser replicones autónomos, muy estables y ser amplificables por antibióticos como el cloranfenicol.

De forma general, la molécula recombinante entre el vector y el ADN pasajero (fragmento obtenido por digestión del genoma en el cual se encontraba anteriormente), se construye aislando el ADN pasajero en geles de agarosa y combinándolo *in vitro* con el vector previamente purificado y linearizado por enzimas de restricción. Esta molécula recombinante es seleccionada después en geles de agarosa para verificar la correcta unión y finalmente es introducida en la célula receptora por transformación.

PERSPECTIVAS DEL USO DE ADN RECOMBINANTE

1. Permite conocer los sistemas de regulación, secuencias y regiones clonadas en los genes.
2. Obtención de proteínas biológicas con propiedades específicas a una alta concentración y bajo costo.
3. Obtención de antígenos víricos o bacterianos para elaborar vacunas, enzimas, hormonas, etcétera, en grandes cantidades mediante cultivos industriales.
4. Introducir en organismos superiores genes que aportarán características que hasta ahora faltaban, como: supresión de anomalías genéticas en mamíferos, fijación del nitrógeno por plantas que adolecían de esta característica, y otras.

RESUMEN

Se presenta una introducción al tema definiendo los conceptos de genética, genotipo y fenotipo. Se describe la estructura del ácido nucleico, tanto del ADN como del ARN; así como las características más importantes y distintivas entre los genomas eucariótico, procariótico y viral.

Se brindan algunos detalles de la replicación del ADN eucariótico y bacteriano. Además, se describen los aspectos más sobresalientes relativos a los transposones, los plásmidos y los bacteriófagos.

Teniendo en cuenta que la expresión del gen es una función esencial del material genético, se aborda en síntesis cómo la información genética codificada en el ADN se expresa normalmente y cómo ocurre su regulación.

Las mutaciones son cambios hereditarios en el genoma y aunque en las bacterias son raras las mutaciones espontáneas, se explican algunos aspectos generales.

La transferencia de material genético en las bacterias se conoce como recombinación, proceso en el que coexisten una célula donadora (F^+) y una aceptora (F^-), la cual adquiere características nuevas provenientes de la primera. Los mecanismos de recombinación son tres:

1. Transformación.
2. Conjugación (mediada por plásmidos).
3. Transducción (mediada por fagos).

Se explican los tres mecanismos y los microorganismos en los cuales ocurre cada uno de ellos. Se detalla el concepto, características y tipo de plásmidos que se conocen en la actualidad y los fundamentos de la ingeniería genética (ADN recombinante).

BIBLIOGRAFÍA

- Finlay BB, Falcow S. Common themes in microbial pathogenicity revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 1997; 61(2):139.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. *Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*. 15ta ed. México D.F.: Ed. El manual Moderno, 1996.
- Stanier RY, Adelberg EA, Ingraham JL. *Microbiología*. 4ta ed. Barcelona: Editorial Reverté SA, 1984.
- Strom MS, Lory S. Structure-function and biogenesis of the type IV pili. *Annu Rev Microbiol* 1993; 47:565-96.

A graphic featuring the word 'Capítulo' in a purple serif font above a large, stylized number '9' in the same font. The number '9' is set within a light-colored, oval-shaped background with a subtle, textured pattern. A horizontal line extends from the right side of the 'Capítulo' text across the page.

Capítulo

9

Efecto de los agentes físicos y químicos sobre los microorganismos

Daisy P. Rodríguez González

INTRODUCCIÓN

Agentes antimicrobianos son aquellos utilizados para destruir o impedir el crecimiento de los microorganismos. Por su estado pueden ser: líquidos, sólidos o gases y por su naturaleza, físicos y químicos.

La eficacia de estos agentes está condicionada por varios factores como son: la naturaleza y concentración del mismo, así como la concentración y características de la población microbiana presente, la temperatura, la duración del contacto entre el agente y los microorganismos, la naturaleza del material a descontaminar, particularmente la presencia de material orgánico, y el pH.

Los agentes antimicrobianos actúan sobre la estructura de la célula bacteriana y sobre sus procesos metabólicos, y sus modos posibles de acción son: desnaturalización de la proteína, rompimiento de la membrana o de la pared celular, remoción de grupos sulfhidrilo libres, interferencia con reacciones enzimáticas de los microorganismos y acción sobre el ADN.

A continuación vamos a exponer algunos de los términos relacionados con los agentes antimicrobianos y los procesos de esterilización y desinfección.

Bacteriostático. Agente que inhibe el crecimiento de la bacteria; este se reanuda cuando se retira el agente.

Bactericida. Agente que mata a las bacterias. La mayoría no mata a las esporas bacterianas. Esta acción es irreversible.

Germicida. Agente capaz de matar microorganismos rápidamente, algunos de estos agentes actúan matando ciertos microorganismos, pero solamente inhiben el crecimiento de otros.

Virucida. Agente que inactiva a los virus.

Fungicida. Agente que mata a los hongos.

Esporicida. Agente que mata a las esporas bacterianas o micóticas.

Desinfectante. Agente químico usado para matar microorganismos sobre objetos inanimados, pero que resulta tóxico para ser aplicado directamente a los tejidos.

Antisépticos. Son desinfectantes que pueden ser utilizados sobre la piel y, en casos especiales, sobre las mucosas.

Estéril. Libre de vida de cualquier clase. Tenemos que señalar, que dado que el criterio de muerte para los microorganismos es su incapacidad para reproducirse, el material estéril puede contener células microbianas metabólicamente intactas.

Séptico. Presencia de microorganismos perjudiciales en el tejido vivo.

Aséptico. Ausencia de microorganismos patógenos.

ESTERILIZACIÓN Y DESINFECCIÓN

Los procesos de esterilización y desinfección son métodos esenciales, utilizados de manera sistemática en los hospitales, en el tratamiento y en la prevención de infecciones y también en la prevención de la contaminación de los cultivos microbianos de los laboratorios y de la industria farmacéutica y alimentaria.

Estos términos son empleados en referencia a la destrucción o remoción de microorganismos, pero antes de adentrarnos en ellos, por su importancia, vamos a describir el concepto de muerte bacteriana.

Muerte bacteriana. Para una célula bacteriana, muerte significa la pérdida irreversible de la capacidad de reproducirse (crecer y multiplicarse). Pero cuando se trata de microorganismos, la muerte no se mide en una célula individual, sino la muerte de una población, y la prueba de la muerte es la incapacidad de producir una colonia cuando se cultiva en un medio sólido.

Pero la veracidad de esta prueba depende de la elección del medio de cultivo y de las condiciones en que este se realice, ya que si no hubo destrucción física de la célula microbiana, ella sólo está muerta en relación con las condiciones empleadas para probar su viabilidad.

En dependencia del agente antibacteriano usado, tenemos que las células no viables o muertas pueden mostrar o no, alteraciones en propiedades como la morfología, los caracteres tintoriales y la actividad enzimática. Estos criterios no pueden ser usados como pruebas de viabilidad.

Habiendo definido el concepto de muerte bacteriana, pasemos al concepto de *esterilización*, que es el proceso de destrucción o remoción de todas las formas de vida, patógenas o no, de un material o un objeto. Ahora, si consideramos la anterior definición de “muerte bacteriana”, tenemos que no existe la posibilidad, desde el punto de vista conceptual, de garantizar la esterilización de una preparación.

En contraste con el concepto de esterilización, *desinfección* significa la remoción de determinado objeto o de su superficie, de la totalidad o parte de los microorganismos patógenos, de manera que no constituyan una amenaza de enfermedad. A la desinfección aplicada a los tejidos vivos se le denomina *antisepsia*.

Los agentes antimicrobianos, según su acción, se pueden considerar bacteriostáticos o bactericidas, y ya habíamos descrito que según su naturaleza pueden ser físicos o químicos.

Entre los agentes físicos de esterilización se utiliza especialmente el calor (calor húmedo y calor seco), la filtración y las radiaciones.

En cuanto a los agentes químicos, algunos tienen inconvenientes para su uso, por no cumplir el principio de “toxicidad selectiva”, porque resultan muy tóxicos e irritantes para el hombre o porque afectan los materiales a esterilizar.

Hay agentes químicos que pueden emplearse como esterilizantes, por su enérgica acción sobre los microorganismos, pero muchos tienen que ser utilizados diluidos, con el objetivo de disminuir su toxicidad y poder irritante, y en este caso se usan habitualmente como desinfectantes o antisépticos.

AGENTES FÍSICOS

Calor

La utilización de temperaturas elevadas es uno de los métodos más eficaces en la destrucción de microorganismos, y se recomienda su uso, siempre que el material a esterilizar no sea deteriorado por el proceder. Puede ser empleado en una variedad de métodos:

Calor húmedo. La muerte por acción del calor húmedo resulta de la desnaturalización y coagulación de las proteínas que constituyen las células microbianas. La destrucción de enzimas y membranas está influida por la capacidad del agua de promover la destrucción de los puentes de hidrógeno. La temperatura altera la estabilidad de la membrana citoplasmática bacteriana, lo que ocasiona la salida de los constituyentes intracelulares como los iones potasio, aminoácidos y otros.

Calor húmedo bajo presión: puede ser obtenido en los equipos de esterilización llamados autoclaves, cuyo funcionamiento es similar al de una olla de presión doméstica. El calor húmedo es más eficaz porque las bacterias se mueren más rápidamente cuando se encuentran húmedas y la difusión del vapor caliente dentro del equipo es mejor. El aumento de la presión hace que aumente la temperatura en el interior del autoclave y la destrucción de los microorganismos se debe al efecto de la temperatura, no a la presión por sí misma. Una temperatura de 121 °C y una presión de 15 lb/pulg², en un tiempo de 15 min, se emplea para la esterilización del material quirúrgico, las ropas y los medios de cultivo.

Calor húmedo a temperatura inferior a 100 °C: se utiliza en el proceso conocido como pasteurización. De empleo frecuente en la industria alimentaria, no es equivalente al proceso de esterilización, porque no todos los microorganismos son susceptibles a este proceder. Esta técnica reduce la contaminación microbiana de productos en los que la temperatura de esterilización puede afectar el sabor, aspecto, textura o las características nutricionales. Por ejemplo, en la pasteurización de la leche se pueden emplear dos métodos; en uno, conocido como “pasteurización baja”, se utiliza una temperatura de 62,8-65,6 °C, durante 30 min; y en otro, conocido como “pasteurización alta”, se somete la leche a temperatura de 71,7 °C, durante 15 s, seguidos de un enfriamiento rápido. Mediante estos procedimientos son eliminadas las células vegetativas de microorganismos patógenos como el *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Brucella abortus*, diversas especies de *Salmonella* y varios otros microorganismos.

Calor húmedo a temperatura de 100 °C:

- Agua en ebullición: la ebullición a 100 °C durante 5 a 10 min, destruye todas las formas vegetativas de los microorganismos presentes en el agua y muchas de las esporas. Pero algunas esporas resisten los 100 °C por periodos superiores a una hora, por lo que este método no asegura la esterilidad.
- Vapor fluente: con este método el material a descontaminar es bañado por una corriente de vapor a 100 °C durante 30 min, lo que permite su calentamiento rápido.

Calor seco. El calor seco actúa sobre los microorganismos provocando la oxidación de los componentes de las células y la coagulación de sus proteínas.

Se utilizan las estufas de aire caliente, también llamadas hornos tipo Pasteur. Con este método es necesario mantener temperaturas de 160-180 °C, por 1-2 horas. Mediante este proceder se esterilizan materiales de vidrio, objetos de metal, aceites, grasas sólidas y sustancias en polvo. Productos como la vaselina, los aceites, las grasas sólidas y líquidas, y los polvos, tienen un porcentaje de agua muy pequeño y no se dejan penetrar por la humedad, por lo que no es posible su esterilización en autoclave.

Incineración. Es el proceso ideal, ya que mata rápidamente por carbonización todos los microorganismos presentes en el material o preparación. Se utiliza en los laboratorios para esterilizar los instrumentos de siembra (asas y agujas de platino), pinzas y otros, con la exposición directa a la llama del mechero de gas y el calentamiento al rojo vivo del material a esterilizar. Durante el proceso se pueden formar aerosoles que contienen microorganismos todavía viables, los cuales pueden contaminar los cultivos o infectar al operador. La incineración se emplea también en la destrucción de residuos hospitalarios y de laboratorios.

Filtración

Es un método que se usa habitualmente para la remoción de microorganismos de líquidos, gases termolábiles y del propio aire atmosférico. El producto a filtrar, líquido o gas, se hace pasar por superficies filtrantes, que pueden ser de diferentes materiales como: amianto,

porcelana, vidrio poroso y otros, y poseen poros de dimensiones que no permiten el paso de los microorganismos, quedando de esta forma retenidos. Este método es muy usado en los laboratorios de microbiología y en la industria farmacéutica, con el objetivo de remover microorganismos de soluciones lábiles al calor, como, por ejemplo, las preparaciones de azúcares que se utilizan para la identificación bioquímica de los microorganismos, el plasma, las vitaminas y otras. En los laboratorios se emplean habitualmente los filtros tipo Millipore, con discos o membranas de celulosa, que están disponibles en el mercado, con una gran variedad de tamaño de poros. Cuando se usan estos filtros, hay que tener en cuenta que la mayoría de los discos que se utilizan comúnmente, son incapaces para retener determinados virus pequeños. Los filtros de membrana se han empleado, además, para concentrar microorganismos de grandes volúmenes de muestras, como ocurre en el análisis bacteriológico de las aguas. En los equipos de flujo laminar que se utilizan en los laboratorios y en unidades de hospitales y la industria, donde se requiere un ambiente con determinadas características, se trata el aire mediante los filtros de elevada eficiencia para partículas existentes en el aire (*High Efficiency Particle Air filter*), conocidos con el nombre de filtros HEPA.

Radiaciones

Radiaciones no ionizantes. Las radiaciones ultravioletas deben su efecto microbicida a su absorción por diferentes componentes celulares y a la alteración estructural del ADN. Su aplicación en la esterilización está limitada por el pobre poder de penetración que poseen. Se utilizan en los laboratorios farmacéuticos y en hospitales, para la esterilización de superficies de determinados ambientes.

Radiaciones ionizantes. Los rayos gamma, rayos X y rayos catódicos, tienen acción directa sobre los constituyentes de las células, sobre el ADN y sobre las proteínas celulares. Estas radiaciones poseen un gran poder, penetrando embalajes de productos medicamentosos y otros, pero deben ser usadas con precaución, por el daño potencial que pueden causar a las células humanas. Se utilizan para la esterilización de sustancias termolábiles y tienen gran aplicación en la industria farmacéutica, en la esterilización de inyectables, de equipos médicos como catéteres y jeringuillas, y en la esterilización de alimentos empacados.

AGENTES QUÍMICOS

Existen determinadas sustancias químicas las cuales pueden actuar sobre los microorganismos con una cierta especificidad de acción, que conocemos con el término de *toxicidad selectiva* y se utilizan en la práctica médica como antibióticos y quimioterápicos. Estas sustancias serán tratadas en otro capítulo de este libro.

Aquí vamos a hacer referencia a agentes químicos con una acción no selectiva sobre las células en las que actúan, y que se conocen como *desinfectantes* y *antisépticos*. Ya anteriormente habíamos definido que un desinfectante se emplea para el control de los microorganismos sobre objetos inanimados y el antiséptico puede ser aplicado sobre tejidos vivos.

Los antisépticos pueden causar la muerte de los microorganismos, la inhibición de su reproducción o de sus actividades metabólicas, pero a pesar de su relativa inocuidad, su aplicación en heridas puede retardar la cicatrización y dañar las células de los tejidos.

Los desinfectantes permiten remover de objetos inanimados y del medio ambiente parte o la totalidad de los microorganismos patógenos que pueden ser susceptibles de causar enfermedades; estos agentes destruyen las formas vegetativas de los microorganismos, pero no necesariamente sus esporas, aunque algunos como, por ejemplo, el óxido de etileno, tienen poder esterilizante.

Estos agentes son, generalmente, muy tóxicos.

Propiedades deseables de los desinfectantes

1. Elevada actividad germicida.
2. Amplio espectro antimicrobiano.

3. Letal para bacterias, hongos, virus y protozoos.
4. Acción rápidamente mortal.
5. Penetrar grietas, cavidades y por debajo de películas de materia orgánica.
6. Lograr concentraciones letales en presencias orgánicas como sangre, esputo, heces.
7. Compatible con jabones o cualquier otra sustancia química que pudiera encontrarse en el material sometido a desinfección.
8. Marcada estabilidad química.
9. Costo razonable.

Para que la acción de los desinfectantes sea eficaz, es necesario la limpieza previa con agua y jabón. El arrastre mecánico disminuye el tenor bacteriano y elimina la materia orgánica, facilitando la acción eficaz de los productos químicos.

Desinfectantes y antisépticos más utilizados en la práctica

Fenoles y sus derivados. Son sustancias muy efectivas, usadas como desinfectantes y antisépticos. La solución al 2 % de fenol USP (United States Pharmacopea) (ácido carbólico), es muy utilizada, pero se debe tener precauciones al emplearse, porque resulta muy tóxico e irritante para el hombre y puede causar dermatitis y otras lesiones tisulares. Otros derivados fenólicos son: el lisol, utilizado como desinfectante, y el hexaclorofeno, empleado como antiséptico. Estos agentes actúan alterando la estructura y los mecanismos de permeabilidad selectiva de la membrana celular de los microorganismos y, además, desnaturalizan las proteínas. Se usan como desinfectante general, en la descontaminación de instrumentos clínicos y de secreciones y excreciones de pacientes, en preparaciones antisépticas para la piel y en preparaciones cosméticas, pero el riesgo de toxicidad restringe su utilización. El fenol se emplea, además, como patrón para la validación de la actividad antimicrobiana de otros agentes, cuya actividad es referida como *coeficiente fenólico*.

Alcoholes. Cuando son usados apropiadamente, matan las células vegetativas de muchas bacterias, sin embargo, su acción sobre las esporas es pobre o nula. Los alcoholes actúan precipitando las proteínas y solubilizando los lípidos presentes en las membranas celulares. Como solvente también actúan sobre los tejidos humanos. El alcohol etílico en una concentración entre el 70 y el 90 %, es utilizado como antiséptico y desinfectante; y el alcohol isopropílico y propílico en concentraciones entre el 40 y el 80 %, presentan, con respecto al etanol, una mayor eficacia sobre las formas bacterianas vegetativas, por lo que son aplicados con frecuencia en sustitución del alcohol etílico. Se emplean, entre otros usos, en la desinfección de la piel del paciente, antes de la realización de procedimientos invasivos y para el tratamiento de las manos del personal, en áreas donde el lavado higiénico de las mismas resulta insuficiente.

Halógenos. El cloro y los agentes liberadores de cloro son desinfectantes eficaces de uso general contra todo tipo de microorganismos, y con un papel especial en el tratamiento del agua, pero tienen el inconveniente de que corroen los metales y su actividad se reduce notablemente en presencia de materia orgánica. Entre los compuestos liberadores de cloro, el hipoclorito de sodio y los compuestos N-clorados son los desinfectantes más utilizados en las instituciones de salud. Los halógenos son oxidantes fuertes, que destruyen la actividad de las proteínas celulares por oxidación de sus grupos sulfhidrilos. Se emplean como ya hemos mencionado en el tratamiento del agua de consumo y de piscinas; en la desinfección de objetos y superficies no metálicas, y en la cristalería de laboratorio como, por ejemplo, las pipetas usadas. Las concentraciones recomendadas de hipocloritos varían en función del objeto de la desinfección; así, se utiliza 1 000 mg/L (1000 ppm) de cloro disponible para la desinfección de superficies limpias, y 10 000 mg/L (10 000 ppm) de cloro disponible, en presencia de abundante materia orgánica, con un tiempo de contacto superior a 1 hora. Las diluciones de uso provenientes de las soluciones de hipocloritos, deben conservarse en recipientes oscuros y una observación práctica es tener la precaución de no agregar ácidos a los hipocloritos, ya que puede desprenderse gas de cloro, muy tóxico.

Aldehídos. Son agentes alquilantes que se emplean para el tratamiento de ambientes y de instrumentos médicos y quirúrgicos, los cuales soportan las temperaturas exigidas por las

técnicas que esterilizan basándose en la acción del calor. En este grupo se encuentran sustancias tan utilizadas como el formaldehído, el óxido de etileno y el glutaraldehído. La acción de estos agentes se lleva a cabo en la célula, inactivando enzimas y proteínas, mediante la sustitución de átomos lábiles de hidrógeno por radicales alquilo.

El formaldehído es usado en su forma gaseosa para la desinfección y esterilización de ambientes especiales como los salones de operaciones, ropas, muebles y otros artículos, y se utiliza también en solución acuosa en la esterilización de algunos instrumentos.

El óxido de etileno mezclado con gases inertes, para disminuir el peligro de explosión, se emplea exclusivamente en equipos o cámaras especiales. Por su acción penetrante, permite la esterilización de materiales empacados en papel o en polietileno, y se utiliza en artículos de plástico o de goma como jeringuillas y sondas.

El glutaraldehído en solución al 2 % es idóneo para la desinfección de equipos de hospital como citoscopios, equipos de anestesia y de laboratorio, susceptibles de corrosión. No penetra fácilmente en la materia orgánica, por lo que sólo se debe usar en superficies limpias. Para el uso de todos estos agentes es muy importante tener control de la adecuada concentración del producto, el tiempo de exposición y la temperatura y humedad relativa a la que se emplean. Además, por sus propiedades tóxicas, su empleo debe estar restringido a aplicaciones especiales, ya que los riesgos y consecuencias de su uso no solamente pueden afectar al paciente, sino también al que utiliza y manipula los materiales así esterilizados (enfermeras, cirujanos y otros), así como al personal de los servicios de esterilización.

Iones de metales pesados. Las sales de metales pesados actúan como antimicrobianas, pero, generalmente, a altas concentraciones resultan perjudiciales para los tejidos humanos. El mercurio y sus sales fueron los primeros agentes empleados en el tratamiento de la sífilis, más al igual que otros metales pesados empleados como desinfectantes, han sido sustituidos por su alta toxicidad. Las sales de mercurio, plata y cobre desnaturalizan las proteínas en concentraciones altas, pero es desaconsejable su uso en humanos. En bajas concentraciones, como habitualmente se utilizan, actúan combinándose con los grupos sulfhidrilo. La aplicación de los compuestos mercuriales está restringida al tratamiento de infecciones de la piel y heridas pequeñas. Los compuestos de otros metales como, por ejemplo, el nitrato de plata en solución al 1 %, han sido ampliamente utilizados en la prevención de la oftalmía gonocócica del recién nacido; y los compuestos con cobre y zinc se han empleado como fungicidas.

Detergentes catiónicos, En estos detergentes, sus características tensioactivas están asociadas a la porción catiónica de la molécula. Su propiedad de concentrarse en la interfase entre la membrana de una célula bacteriana, que contiene lípido, y el medio acuoso que la rodea, les permite actuar alterando la función de la membrana celular bacteriana. Son representantes de este grupo los compuestos de amonio cuaternario, como el cloruro de benzalconio, el cetavión, y el cetrimida, todos de amplio uso hospitalario como antisépticos y desinfectantes de superficies y equipos.

El uso inadecuado o excesivo de los desinfectantes es un hecho presente en muchos hospitales del mundo; para solucionar esto, las instituciones de salud deben tener normas escritas sobre el empleo de los desinfectantes químicos. Para hacer estas normas, hay que partir del conocimiento de los desinfectantes en uso en el medio del cual se trate y de sus aplicaciones.

Se debe suprimir la utilización de los desinfectantes en las situaciones en que una buena limpieza sea suficiente; también cuando, por el contrario, se requiera la esterilización y en los casos en que sea posible la desinfección térmica o resulte más económico el empleo de artículos desechables.

Se debe seleccionar un número limitado de desinfectantes para las aplicaciones en que se considere su uso.

La eficacia de las diluciones de uso de los desinfectantes, se debe comprobar periódicamente mediante pruebas de uso, como la desarrollada por Kelsey y Maurer, a la que nos referiremos en el capítulo sobre infección intrahospitalaria.

RESUMEN

Los agentes antimicrobianos son utilizados para destruir o impedir el crecimiento de los microorganismos. Por su naturaleza pueden ser: físicos o químicos y tienen

diferentes modos de actuar sobre la estructura de la célula bacteriana y sus procesos metabólicos.

Estos agentes se emplean en los procesos de esterilización y desinfección en los hospitales, en relación con la atención de pacientes; también en los laboratorios para evitar la contaminación microbiana de los cultivos y en la industria farmacéutica y alimentaria.

En este capítulo se enuncian conceptos relacionados con los agentes antimicrobianos, se describen los principales agentes, su modo de acción y los usos más frecuentes.

BIBLIOGRAFÍA

- Black JG. Microbiology. Principles and Applications. 3rd ed. Chap. 13. New Jersey, EUA: Prentice-Hall International 1996;332-55.
- Blair A, Stewart PA. Correlation between different measures of occupational exposure for formaldehyde. *Am J Epidemiol* 1990;131:510-6.
- Brooks GF, Butel JS, Ornston LN, Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 15ta ed. en español. Cap. 4. México D.F.: Ed. El Manual Moderno, 1996:51-61.
- Hogstedt Ch, Aringer L, Gustavsson A. Epidemiologic support for ethylene oxide as a cancer-causing agent. *JAMA* 1986;25(12):1575-78.
- Organización Panamericana de Salud [Reseña]. Selección y uso de desinfectantes y descontaminantes. *Bol Sanit Panam* 1983;95(6):556-62.
- Romero Cabello R. Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. 2da ed. México: Ed Médica Panamericana, 1999.
- Vieira Peixe L. Esterilização, Antisepsia e Desinfecção. *En: Canas Ferreira WF, Sousa JCF. Microbiología. Vol I. Lisboa: Lidel-Edições Técnicas, 1998:221-37.*
- Wagner GE. Antimicrobial Agents. *En: Kingsbury DT, Wagner GE. The National Medical Series for Independent Study. Microbiology. 2nd ed. USA: Williams & Wilkins, 1990:29-42.*

A graphic featuring a light-colored, textured oval shape. Inside the oval, the word "Capítulo" is written in a purple, serif font at the top, and the number "10" is written in a larger, bold, purple, serif font below it. A thin horizontal line extends from the right side of the oval across the page.

Capítulo 10

Quimioterapia antimicrobiana

Alina Llop Hernández

INTRODUCCIÓN

Al formular Paul Ehrlich los principios de la toxicidad selectiva en la primera década del siglo xx y su reconocimiento de las relaciones químicas específicas entre los parásitos y las drogas, reconoció, además, la función de la terapia combinada. Puede considerarse que se abre así, el camino hacia el desarrollo de esta relación parásito-fármaco. Es precisamente él, el conductor de los experimentos con los arsenicales, lo que ha sido considerado “como el primer triunfo importante de la Quimioterapia”.

Los **quimioterápicos y los antibióticos** son productos químicos que tienen alguna o total acción sobre los microorganismos, bien de inhibición como de exterminio.

Se relaciona el inicio de la era actual de la quimioterapia antimicrobiana en 1935, con las sulfonamidas, y de la antibioticoterapia con el uso de la penicilina, descubierta por Fleming desde 1929.

La aplicación de la penicilina en Estados Unidos en el accidente de Chicago con un éxito escandaloso, revolucionó el tratamiento de las infecciones, creyéndose que este descubrimiento traería como consecuencia la eliminación de las infecciones en el hombre. A partir de la década de los 40 y después de unos años, más que de uso, de abuso de la penicilina, los científicos se dieron cuenta que las cosas no se presentaban como se había pensado de inicio y que todas las infecciones no eran resueltas por la penicilina. Comienza entonces la carrera de los científicos y de la industria farmacéutica en la búsqueda de nuevos fármacos y surge la estreptomycin, tetraciclina, cloranfenicol y muchos otros agentes.

En una primera instancia estas sustancias fueron aisladas de filtrados de medios en los cuales los hongos productores habían crecido, al pasar de los años y como consecuencia del desarrollo de otras ciencias se ha pasado a la modificación biosintética de moléculas.

Lo que realmente comenzó hace tanto tiempo, en el siglo xvii, con la utilización de diferentes sustancias químicas para el tratamiento de enfermedades infecciosas (uso de la quinina para el paludismo), se continúa con un verdadero salto en los conceptos y el accionar con Ehrlich y Fleming a principios del siglo xx, y se revoluciona con la aplicación a la infección de la penicilina como tratamiento, hoy constituye el gran capítulo de desarrollo de múltiples drogas, que comenzaron a surgir en los últimos 60 años y no ha concluido, pues el hombre debe lograr el fármaco universal.

MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS FÁRMACOS ANTIMICROBIANOS

Antes debemos hacer referencia al término de toxicidad selectiva. Cuando un medicamento resulta nocivo para un parásito e inocuo para el hospedero, decimos que presenta toxicidad selectiva. Por lo que un agente antimicrobiano ideal muestra toxicidad selectiva. Lo frecuente es que el término sea relativo, pues se presenta una droga que en una concentración tolerable para el hospedero, pueda dañar al parásito. La evidencia que nos demuestre el mecanismo completo de la acción de la mayor parte de los antimicrobianos aún no la tenemos, pero han sido descritos cuatro fundamentales:

1. Inhibición de la síntesis de la pared celular.
2. Inhibición de las funciones de la membrana celular.
3. Inhibición de la síntesis proteica (se inhibe la transducción del material genético).
4. Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos.

INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE LA PARED CELULAR

Este mecanismo guarda una estrecha relación con la estructura de la bacteria. Recordemos que estas poseen una capa exterior rígida: la pared celular. Esta pared dentro de sus propiedades tiene la de dar la forma a los microorganismos, confiriéndole, además, una presión osmótica interna alta a la bacteria que varía de tres a cinco veces mayor en las grampositivas que en las gramnegativas. El daño a la síntesis de la pared origina la formación de protoplastos bacterianos esféricos a partir de las grampositivas o de esferoplastos a partir de los microorganismos gramnegativos; ambos son recubiertos por una frágil membrana citoplasmática. De colocarse en un ambiente de tonicidad ordinaria, pueden explotar.

La pared celular bacteriana contiene un mucopéptido (mureína, peptidoglicano) el cual no es más que un polisacárido y un polipéptido con muchos enlaces, nueve eslabones transversos. El polisacárido contiene a los aminoazúcares N-acetilglucosamina y ácido acetilmurámico de modo regular; este último sólo es propio de las bacterias. Las cadenas pentapeptídicas se ligan a los aminoazúcares. La rigidez final de la pared celular es dada por los enlaces cruzados de las cadenas peptídicas. La envoltura de peptidoglicano es mucho más gruesa en la pared celular de las grampositivas que en las gramnegativas.

Los fármacos que ejercen estos mecanismos son, principalmente: penicilina, bacitracina, cefalosporinas, cicloserina y vancomicina.

Betalactamasa y fármacos betalactámicos. Los fármacos betalactámicos son inhibidores selectivos de la síntesis de la pared celular bacteriana y, por tanto, activos contra las bacterias en proliferación. Los pasos son los siguientes:

1. Fijación del agente a los receptores celulares (proteínas fijadoras de penicilina, PFP).
2. Eliminación o inactivación de un inhibidor de las enzimas autolíticas de la pared celular (protoplastos o esferoplastos).
3. Producción de enzimas destructoras de la penicilina (betalactamasas) por el microorganismo. De estas, algunas son mediadas por plásmidos, ejemplo: la penicilinasas de *S. aureus*. Otras son mediadas por cromosomas, como ejemplo tenemos muchas especies de bacterias gramnegativas. Todas de las más de 30 betalactamasas, según Jawetz, mediadas por plásmidos, son producidas en forma constitutiva; muchas son codificadas por genes en los plásmidos y poseen alta propensión a moverse de una especie bacteriana a otra, por ejemplo: *N. gonorrhoeae*, *H. influenzae*, enterococos productores de betalactamasa. La clasificación de las betalactamasas es compleja, se basa en la genética, propiedades bioquímicas y afinidad por el sustrato para un inhibidor de la betalactamasa (ácido clavulánico). El ácido clavulánico, el sulbactam y el tazobactam son inhibidores de la betalactamasa y presentan afinidad alta por algunas betalactamasas a las cuales se fijan de modo irreversible, pero no son hidrolizados por estas. El concepto recientemente descrito de las betalactamasas de espectro extendido o ampliado debe ser considerado.
4. Ausencia de algunos receptores para la penicilina (PFP), los que se presentan como resultado de una mutación cromosómica.

5. Insuficiencia del medicamento betalactámico para activar a las enzimas autolíticas de la pared celular. Como resultado se inhibe el microorganismo, pero no se le destruye. Esta tolerancia se ha observado en ciertos estafilococos y estreptococos.

Varios medicamentos inhiben las etapas tempranas de la síntesis del peptidoglicano. Generalmente no es este un mecanismo único de inhibición de estos medicamentos de la síntesis de la pared.

INHIBICIÓN DE LAS FUNCIONES DE LA MEMBRANA CELULAR

En toda célula viva el citoplasma está limitado por la membrana citoplasmática, verdadera barrera de permeabilidad selectiva, la cual realiza funciones de transporte activo y, por tanto, controla la composición interna de la célula. Si esta función es interrumpida, las macromoléculas y los iones escapan de la célula, por lo que causan daño o muerte celular. Existe diferencia entre la membrana citoplasmática de las bacterias y la de los hongos, y ambas pueden lesionarse con más facilidad que las células animales; por eso es posible tener actividad quimioterápica selectiva. Ejemplo son las polimixinas (actúan frente a bacterias gramnegativas) y los polienos que atacan a los hongos, los cuales requieren de la fijación de un esteroles que no existe en la membrana de las bacterias. Los polienos no atacan a las bacterias y constituyen un ejemplo de toxicidad selectiva, el más conocido es la anfotericina B. Al igual que las polimixinas, a este grupo pertenecen las drogas: colistina, imidazoles y polienos.

INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS PROTEICA

Se ha demostrado que inhiben la síntesis de proteínas en las bacterias, el cloranfenicol, tetraciclinas, aminoglicósidos, eritromicinas y lincomicinas. Su mecanismo de acción no se conoce completamente.

1. Las bacterias poseen ribosomas 70 S, mientras que las células de los mamíferos tienen ribosomas 80 S.
2. Los ribosomas de las bacterias son lo suficientemente diferentes en cuanto a las subunidades que las integran, su composición química y sus especificidades funcionales, lo cual permite explicar el por qué los antimicrobianos que pueden inhibir a las bacterias no hacen el mayor efecto en las células animales.
3. Las bacterias poseen polisomas, que son ribosomas capaces de leer el mensaje de ARNm que se encuentra ensartado a lo largo de la tira de ARNm.

Aminoglicósidos

De los aminoglicósidos, el modo de acción que más se conoce es el de la estreptomina, quizá todos los demás actúen de modo parecido (kanamicina, neomicina, gentamicina, tobramicina, amikacina, entre otros). Pueden ser descritas cuatro etapas:

- 1ra Inserción de P12 (proteína receptora especial) sobre la subunidad 30 S del ribosoma microbiano.
- 2da Bloqueo del complejo de la actividad normal del "complejo de iniciación" de la formación del péptido (ARNm-formilmetionina-ARNt).
- 3ra El mensaje del ARNm es leído mal sobre la región del "reconocimiento" del ribosoma y como resultado de la inserción del aminoácido equivocado en el interior del péptido se produce una proteína no funcional.
- 4ta La inserción del aminoglicósido resulta en la demolición de los polisomas y en su separación en monosomas, incapaces estos de efectuar la síntesis proteica. Se describe que estas actividades resultan más o menos simultáneas; el efecto global es, por lo general, irreversible y destruye a la bacteria.

La resistencia cromosómica de las bacterias a los aminoglicósidos depende, principalmente, de la falla de la proteína receptora específica sobre la subunidad 30 S del ribosoma. La resistencia dependiente del plásmido contra ellos depende de la producción por la bacteria de enzimas adenilantes, fosforilantes o acetilantes que destruyen a las drogas. Pueden tener un tercer modo de resistencia, el cual consiste en un "defecto en la permeabilidad", un cambio en el exterior de la membrana que reduce el transporte activo del aminoglicósido hacia el interior de la célula, de modo que el medicamento no puede llegar al ribosoma. Los plásmidos, en ocasiones, median el proceso.

Tetraciclinas

Las tetraciclinas se enlazan con la subunidad 30 S de los ribosomas bacterianos. Inhiben la síntesis proteica bloqueando la inserción del ARNt-aminoacilo cargado y previniendo la introducción de nuevos aminoácidos a la cadena nascente del polipéptido. Su acción, en general, es inhibitoria y reversible al suspender el medicamento. La resistencia a las tetraciclinas se debe a cambios en la cubierta de la bacteria. En las sensibles, el medicamento se concentra a partir del medio y no deja la célula; mientras que en las resistentes, el medicamento no se transporta de modo activo al interior o sale tan rápido que no mantiene las concentraciones inhibitorias. Ello es, a menudo controlado por plásmidos.

Cloranfenicol

Se fija a la subunidad 50 S de los ribosomas bacterianos e interfiere con el enlace de los aminoácidos a cadenas peptídicas nascentes, principalmente porque la droga inhibe la peptidiltransferasa. Su acción principal es bacteriostática, sea, su acción sobre la bacteria es reversible cuando esta es suspendida. Los microorganismos resistentes producen una enzima, la cloranfenicolacetiltransferasa, que destruye el medicamento. Por lo general, la producción de esta enzima está bajo el control de plásmidos.

Macrólidos (eritromicina, azitromicina y claritromicina)

Estas drogas se integran en la subunidad 50 S del ribosoma, y el sitio de unión es una 23 S ARNr. Pueden interferir con la formación de los complejos iniciales para la síntesis de la cadena peptídica o con las reacciones de translocación de aminoacilos. Algunas bacterias resistentes a los macrólidos no poseen el receptor apropiado sobre el ribosoma (por metilación del ARNr). Estas pueden hallarse bajo el control plasmídico o del cromosoma.

Lincomicinas (lincomicina, clindamicina)

Estos antibióticos son parecidos a los macrólidos en la actividad antibacteriana y en su modo de acción. Se eslabonan a la subunidad 50 S del ribosoma bacteriano. Puede presentarse interferencia mutua entre estos medicamentos. Los cromosomas mutantes son resistentes debido a que carecen del sitio de enlace sobre la subunidad 50 S.

INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE ÁCIDOS NUCLEICOS (QUINOLONAS, PRIMETAMINA, RIFAMPICINA, SULFONAMIDAS, TRIMETOPRIM)

Las quinolonas y las fluoroquinolonas inhiben la síntesis de ADN de la bacteria por bloqueo de la ADN girasa.

La primetamina inhibe la dihidrofolatorreductasa, pero es más activa contra la enzima en las células de los mamíferos y, por tanto, es más tóxica que el trimetoprim.

La rifampicina inhibe el desarrollo bacteriano al enlazarse fuertemente a la polimerasa del ARN dependiente del ADN de las bacterias, por lo tanto, inhibe la síntesis bacteriana del

ARN. La resistencia a esta droga resulta de un cambio en la ARN polimerasa por mutación cromosómica, la que ocurre con relativa frecuencia. El mecanismo de acción de la rifampicina sobre los virus es diferente, acontece por bloqueo de una última etapa en el ensamble de los poxvirus.

Las sulfonamidas pueden penetrar en la reacción en lugar del PABA, compitiendo por el centro activo de la enzima, lo cual determina que se formen análogos no funcionales del ácido fólico; esto evita el desarrollo ulterior de la célula bacteriana.

El trimetoprim inhibe la reductasa del ácido dihidrofólico con una eficacia de 50 000 veces mayor en las bacterias que en las células de mamíferos. Esta enzima reduce el ácido dihidrofólico a ácido tetrahidrofólico, una etapa en la secuencia que conduce a la síntesis de las purinas y, por último, del ADN. Si las sulfonamidas se unen al trimetoprim, producen un bloqueo secuencial incrementando la actividad (sinergismo).

ORIGEN DE LA RESISTENCIA DE LAS BACTERIAS A LOS ANTIBIÓTICOS

ORIGEN NO GENÉTICO

La mayoría de las acciones de los medicamentos antimicrobianos sobre las bacterias requieren de la multiplicación de estas. Cuando nos encontramos frente a bacterias inactivas, que no se multiplican, pueden resultar fenotípicamente resistentes a la droga. Pero su descendencia sí va a mostrar sensibilidad. El mejor ejemplo lo podemos encontrar en las micobacterias, las que a menudo sobreviven en los tejidos por años después de la infección, frenadas por los mecanismos de defensa del hospedero, y esto hace que no se multipliquen. Por ello son llamadas bacterias *persistentes*, que son resistentes y no pueden ser erradicadas mediante los medicamentos. Pero si se suprime la inmunidad celular en el paciente, se vuelven vulnerables, sensibles, a los mismos medicamentos.

Algunos microorganismos pueden perder la estructura de blanco específico para ciertos medicamentos y eso es posible que ocurra por varias generaciones y volverse de esa forma resistentes. Cuando esas bacterias recobran su capacidad de producción de pared celular, recobran también la susceptibilidad por completo al antibiótico. Este ejemplo es válido para la penicilina.

ORIGEN GENÉTICO

Los microorganismos resistentes en su mayoría surgen por los cambios genéticos y de los procesos subsiguientes de selección por los antimicrobianos.

Resistencia cromosómica. Cuando en un locus que controla la susceptibilidad a un antimicrobiano se desarrolla una mutación espontánea, decimos que nos encontramos frente a una *resistencia cromosómica*. El medicamento actúa como un selector suprimiendo bacterias sensibles y permitiendo el desarrollo de mutantes resistentes a las drogas. Existe también mutación espontánea con frecuencia de 10^{12} - 10^7 . No siempre sucede igualmente a este ritmo, puede ser inferior, como es el caso de la rifampicina como medicamento único, por lo que debe utilizarse con sumo cuidado, atendiendo el fallo de tratamiento y la aparición de la resistencia. Una pequeña región del cromosoma bacteriano contiene genes estructurales que codifican a cierto número de receptores farmacológicos. La mutación puede conducir, además, a la pérdida de PFP (proteína fijadora de penicilina; receptor), haciendo estas mutantes no sólo resistentes a la penicilina, sino también a los betalactámicos.

Resistencia extracromosómica. Elementos genéticos extracromosómicos llamados plásmidos se hallan contenidos en las bacterias (descritos anteriormente). Los factores R son una clase de plásmidos que confieren a la bacteria genes para la resistencia a un medicamento y metal pesado, y a menudo a varios de ellos. Estos genes controlan la producción de enzimas capaces de destruir a los antimicrobianos. Por tanto, los plásmidos determinan la resistencia a las penicilinas y cefalosporinas, portando genes para la formación de

betalactamasa. Son también los plásmidos los que codifican las enzimas que destruyen al cloranfenicol (acetiltransferasa); las que acetilan, adenilan o fosforilan diversos aminoglicósidos, y las que determinan el transporte activo de las tetraciclinas a través de la membrana celular; y otros medicamentos. Se han descrito cuatro mecanismos mediante los cuales el material genético y los plásmidos pueden ser transferidos:

1. *Transducción*: el plásmido ADN es encerrado en un virus bacteriano y transferido por ese virus a otra bacteria de la misma especie; ejemplo: el plásmido que porta el gen para la producción de betalactamasa puede transferirse de un estafilococo resistente a la penicilina a uno sensible, si es transmitido por algún bacteriófago adecuado. Una transducción semejante ocurre con las salmonellas.
2. *Transformación*: el ADN desnudo pasa de una célula de una especie a otra alterando, por lo tanto, su genotipo. Esto puede ocurrir a través de la manipulación de laboratorio.
3. *Conjugación*: cuando se produce una transferencia unilateral de material entre bacterias no sólo del mismo género durante el proceso de conjugación, estamos en presencia de una conjugación. Se dice que esta transferencia es mediada por un factor de fertilidad (F) que no es más que el producto de la extensión de los pelos sexuales de la célula donadora al receptor. Tanto el plásmido u otro ADN son transferidos a través de estos túbulos de proteína del donador al receptor. Es así como pueden transferirse una serie de genes que determinan *resistencia* a un medicamento, de una bacteria resistente a una sensible. Este resulta el método más común de transferencia de *resistencia* a múltiples medicamentos entre diferentes géneros de bacterias gramnegativas. La transferencia de plásmidos R también puede producirse entre algunas bacterias grampositivas.
4. *Transposición*: entre un plásmido y otro puede ocurrir la transferencia de secuencias cortas de ADN; son los llamados transposones. Puede suceder, además, entre un plásmido y una porción del cromosoma bacteriano dentro de alguna bacteria (ver capítulo sobre: "Aplicaciones de la biología molecular a la microbiología médica").

Resistencia cruzada. Se conoce con este nombre la propiedad que presentan algunos microorganismos que pueden ser resistentes a un antibiótico determinado y también a otros medicamentos que compartan algún mecanismo de acción. Esta relación existe de modo principal entre agentes con estructuras químicas análogas (aminoglicósidos) o que tienen un modo semejante de fijación o de acción (macrólidos y lincomicina). En el caso de las tetraciclinas, por ejemplo, el núcleo activo es tan semejante entre ellos que es de esperar una resistencia cruzada.

ESTUDIOS EXPERIMENTALES SOBRE NUEVOS ANTIMICROBIANOS

Recientemente, estudios experimentales de colaboradores de Escocia y Francia han permitido aislar una estructura de una enzima envuelta en la biosíntesis de un constituyente de la pared celular, la L-rhamnosa. Este nuevo mecanismo de acción sugiere que la proteína, dTTP-6-deoxy-D-xylo-4-hexulosa 3,5 epimerasa (RmlC), es centro potencial para el desarrollo de nuevas drogas. Los autores explicaron que la L-rhamnosa actúa como un factor de virulencia para las bacterias grampositivas como los estreptococos, y está relacionada, además, con la resistencia a la muerte por el suero y a la colonización por bacterias gramnegativas, incluyendo *E. coli* y *Salmonella*. Estos estudios todavía muy primarios, según sus autores "pudieran servir de punto de partida para el descubrimiento de nuevas drogas que actúen interfiriendo el mecanismo catalítico de epimerización".

De forma también experimental derivado de la everninomicina (Ziracin), está siendo estudiado en la Laval University en Quebec, y su acción va dirigida a inhibir el crecimiento de bacterias grampositivas penicilino-resistentes. Los investigadores señalan que el producto presenta una vida media significativamente mayor que la de ceftriaxona y vancomicina. Según ellos, el Ziracin constituye una promesa para el tratamiento de las infecciones resistentes por *S. pneumoniae* en pacientes inmunocompetentes e inmunodeficientes.

Los investigadores han puesto también sus esperanzas en los aminoglicósidos a pesar de su toxicidad y su susceptibilidad a las modificaciones químicas. Los estudios se basan en

que las bacterias crean las proteínas que necesitan para sobrevivir, y se encuentran constantemente envueltas en mutaciones. Ellos han hallado una forma de unir el antibiótico al ARN bacteriano, o sea, a la maquinaria que produce la proteína. Eso previene la formación de las proteínas que la hacen resistente a los antibióticos. Los investigadores sostienen que sus trabajos los realizan con los aminoglicósidos porque estos funcionan de diferente manera que otras drogas, previniendo la formación de proteínas, en vez de atacar las proteínas después de que están formadas.

No sólo la búsqueda de nuevas drogas antimicrobianas es un objetivo de los científicos contemporáneos, sino también de otras drogas no antimicrobianas propiamente que permitan la lucha contra la sepsis. Hace poco apareció la noticia del uso ya en fase III de una proteína C activada recombinante humana (Zovant); esta droga puede ayudar a la terapia combinada de la sepsis con antibióticos y sirve para prevenir los coágulos, reducir los ya formados y la inflamación en los vasos sanguíneos, según la firma farmacéutica que investiga en ella.

Recientemente en la American Society for Microbiology fueron presentados varios trabajos sobre la posible utilización de bacteriófagos (virus que infectan bacterias) como posible promesa de una alternativa al tratamiento tradicional con antibióticos. A esta terapia se le han señalado diversas ventajas, entre ellos: que no es necesaria la administración constante como sucede con los antibióticos, “pues los bacteriófagos sólo se encuentran presentes en presencia de las bacterias, y se incrementan si estas crecen, y cuando estas son eliminadas, desaparecen los fagos”. Existen evidencias de hace más de veinte años de la utilización de bacteriófagos en infecciones en Europa del Este.

AGENTES ANTIBACTERIANOS RECIENTEMENTE APROBADOS. NUEVAS APLICACIONES Y NUEVAS DROGAS

En los últimos meses de 1999 fueron aprobados por la US FDA y Food and Drug Administration (FDA-EE.UU.), cuatro nuevos agentes antibacterianos. Levofloxacin sentó un precedente cuando se autorizó su aplicación en el tratamiento de la neumonía a *S. pneumoniae*, causada por cepas penicilino-resistentes en la comunidad. Linezolid (Zyvox) se unió al armamento de drogas a aplicar a las bacterias vancomicino-resistentes, *Enterococcus faecium* (VREF), así como las neumonías nosocomiales producidas por *S. aureus* meticilino-resistente (MRSA), así como en infecciones complicadas de la piel. Linezolid es la primera oxazolidina reconocida por la FDA para uso clínico.

En septiembre de 1999 fue aprobada la droga quinupristin/dalfopristin (Synercid) para el tratamiento a infecciones asociadas a bacteriemia VREF y también se aceptó para lesiones complicadas de la piel (MRSA).

En diciembre de 1999, dos nuevas fluoquinolonas, gatifloxacin (Tequin) y moxifloxacin (Avelox), ambas aprobadas para el tratamiento de las neumonías adquiridas en la comunidad, sinusitis aguda y exacerbación de bronquitis crónica.

Gatifloxacin se autorizó para ser utilizada en pielonefritis no complicada, así como en gonorrea no complicada a *N. gonorrhoeae* y aguda. Nuevos usos en drogas ya conocidas y nuevas drogas surgen cada día, pero... las bacterias no están estáticas.

MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Importante resulta el conocimiento de la actividad antimicrobiana *in vitro*, pues permite al laboratorio conocer la sensibilidad de los diferentes microorganismos a las diversas drogas antimicrobianas. Dicha actividad se mide *in vitro* para determinar: la potencia de una droga antimicrobiana frente a un microorganismo dado, su concentración en los líquidos del cuerpo o en los tejidos, y la sensibilidad de un microorganismo dado a concentraciones conocidas del medicamento. Esta medición sólo se aplicaba a las bacterias, hoy se aplica a todos los microorganismos.

La aplicación de las pruebas *in vitro* comenzó por mediciones cualitativas. Hoy se utilizan más los métodos cuantitativos, pues favorecen el esclarecimiento para la mejor

aplicación o decisión del tratamiento apropiado. Los métodos más comúnmente utilizados son: el de dilución y el de difusión. En ambos métodos se trata de enfrentar un microorganismo (a una concentración predefinida), a una muestra de concentración conocida del medicamento para apreciar y medir el comportamiento del crecimiento del microorganismo en un tiempo y a una temperatura dados, y compararlos con un patrón estándar conocido, que actuará como referencia.

Los métodos cuantitativos se prefieren a los cualitativos. Existen varios procedimientos para la determinación cuantitativa de la sensibilidad a los antimicrobianos, entre otros:

1. Macrodilución en caldo.
2. Dilución en agar.
3. Concentración *Break points*.
4. Microdilución en caldo.
5. E Test.
6. Métodos automatizados.

Casos en que se justifica realizar una prueba cuantitativa (CIM)

- Ausencia de metodología más sencilla
- Falta de estandarización
- Uso de nuevos antibióticos
- Falla inesperada de tratamiento
- Infecciones severas
- Perfiles inusuales
- Pruebas bactericidas

Dentro de las limitaciones que se le señalan a estos métodos se encuentran:

1. No evalúan los factores del paciente: inmunidad humoral y celular, ni la unión del antibiótico a las proteínas.
2. Se trabaja con concentraciones constantes.
3. No existen puntos de corte para todos los microorganismos (MO).
4. Representatividad del inóculo utilizado con relación al proceso patológico.
5. No se tiene en cuenta la fase de crecimiento del MO.
6. No evalúan la cinética de la muerte del MO.

En estos métodos se estima tanto la potencia del antibiótico en la muestra como la “sensibilidad” del microorganismo. A la prueba que el médico indica al paciente, se le conoce con el nombre genérico de *antibiograma* (ver capítulo: “Pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos”).

RELACIÓN MEDICAMENTO-PARÁSITO

Los factores adicionales a esta relación importantes *in vivo* se analizarán a continuación.

AMBIENTE

In vitro el ambiente se mantiene constante, lo que no sucede *in vivo*. En el hospedero, los MO reciben diversas influencias ambientales, según el tipo de tejido donde se encuentren localizados, así como la parte del cuerpo donde esto suceda; por lo que la respuesta de los MO se producirá de una forma menos uniforme a como ocurre en el tubo de ensayo.

Estado de la actividad metabólica. Para la mayor parte de los MO, en el tubo de ensayo la actividad metabólica es más bien uniforme. En el cuerpo, esto es muy diferente; ello está relacionado con el nivel de su actividad biosintética y si esta es baja, son poco sensibles a la acción de los medicamentos. Los MO en “reposo” con frecuencia sobreviven a la exposición de concentraciones altas de las drogas, y después pueden ser causantes de recaídas clínicas del proceso infeccioso.

Distribución del fármaco. En los tubos de ensayo, todos los MO se encuentran por igual expuestos al medicamento, mientras que en el cuerpo se distribuye el medicamento a

diferentes concentraciones de acuerdo con el tejido de que se trate. Al Sistema Nervioso Central muchos medicamentos no llegan. Así mismo la concentración en orina, sangre y tejidos difiere. La respuesta local inducida por el MO puede bloquear la acción del mismo. El tejido necrótico o pus puede absorber el medicamento e impedir el contacto de este con las bacterias.

Localización de los MO. En el tubo de ensayo, los MO entran en contacto directo con las drogas. En el cuerpo, pueden encontrarse localizados intracelularmente. Y si tenemos en cuenta lo planteado en el párrafo anterior y que, además, los medicamentos penetran en las células a diferentes velocidades, la situación se hace más compleja.

Sustancias que interfieren. En el tubo de ensayo, la actividad del medicamento se puede alterar por la unión de este con las proteínas, con los lípidos o por interacción con las sales. Sin embargo, en el interior del organismo del hombre, la composición del medio bioquímico donde se hallan los MO es muy compleja y origina interferencia significativa con la acción del medicamento. Inciden: la fijación a las proteínas sanguíneas, hísticas, los ácidos nucleicos del pus o ser absorbidos físicamente en los exudados, células y restos necróticos, o cambios en el pH.

CONCENTRACIÓN

En el cuerpo humano, la concentración en que se encuentra el medicamento no es estable, lo que sí ocurre en el tubo de ensayo en que el MO se halla a una concentración estable de la droga.

Absorción. La absorción de los medicamentos resulta irregular y de acuerdo con la vía de ingreso utilizada (oral, sanguínea). También contribuyen a esta irregularidad las excreciones, así como inactivación del medicamento, por lo que las concentraciones a las que se hayan expuestos los MO serán variables.

Distribución. Como ya se expresó con anterioridad, la distribución del medicamento varía de acuerdo con el tejido de que se trate, así que las concentraciones serían insuficientes si se administran por vía general; esto conlleva el uso del medicamento directamente al sitio donde se encuentran localizados los MO.

Variabilidad de la concentración. Como el MO prolifera constantemente, es crítico mantener una concentración estable y adecuada del medicamento para erradicarlo. El medicamento se administra de modo intermitente, y se absorbe y excreta de forma irregular, por lo que las concentraciones fluctúan continuamente en el sitio infectado.

RELACIÓN HOSPEDERO-PARÁSITO

Las relaciones hospedero-parásito pueden ser alteradas por los medicamentos antimicrobianos de diferentes formas.

Alteración de la respuesta hística. La respuesta inflamatoria a las infecciones se puede alterar si el medicamento suprime la multiplicación de los MO, pero no los elimina del cuerpo, lo que hace convertir un proceso agudo en crónico. De manera inversa, la supresión de la respuesta inflamatoria en los tejidos por alteración de la inmunidad mediada por células en receptores de trasplantes de tejido, el tratamiento contra el cáncer, o el inmunocompromiso por enfermedad, incrementa la susceptibilidad a infección y disminuye la respuesta a los antibióticos.

Alteración de la respuesta inmunitaria. La respuesta inmune del hospedero se puede modificar si la infección varía por un medicamento antimicrobiano. Un ejemplo clásico es lo que sucede en la infección por estreptococos beta hemolíticos del grupo A (ver capítulo de: "Estreptococos").

Alteración de la flora. Los antibióticos no sólo afectan a los microorganismos llamados patógenos para el hombre, sino también a aquellos MO sensibles, miembros de la flora microbiana normal del cuerpo. Se crea un desequilibrio entre los miembros de esta flora afectada y el hospedero. Esto constituye una fuente de resistencia importante en hospitales, comunidades, e individuos que no hacen uso racional de los antibióticos.

EFECTOS ADVERSOS NO DEPENDIENTES DE LA RESISTENCIA CAUSADOS POR LOS ANTIMICROBIANOS

Sólo para no olvidarnos, recordar que existen los llamados *efectos adversos de los antimicrobianos* y que estos se deben, usualmente, a tres mecanismos:

1. Respuesta exagerada a un efecto conocido de la droga.
2. Reacción inmunológica a la droga o a sus metabolitos.
3. Efectos tóxicos de sus componentes o de sus metabolitos.

La mayoría de las reacciones adversas relacionadas con los antibióticos se deben a una extensión de la acción farmacológica de la droga y son producidas, con frecuencia, por un ajuste inapropiado de la dosis. Algunos antibióticos inducen raramente reacciones adversas, y cuando se producen estas, se deben sólo al compuesto administrado. Como ejemplos bien conocidos tenemos la inducción de anemia aplásica por el cloranfenicol, y la necrosis tóxica provocada por la sulfonamida o el síndrome de Stevens-Johnson. Adicionalmente existen factores dependientes del hospedero, como son: constitución genética, desórdenes clínicos concomitantes, entre otros. Ejemplos de ello han sido reportados en pacientes con VIH, que han desarrollado hepatitis inducidas por la oxacilina. En pacientes con SIDA se han presentado: fiebre, alteraciones de la función hepática, intolerancia gastrointestinal mayor que la que se produce en personas no VIH al uso de TMS, entre otras.

RESUMEN

Este capítulo comprende una síntesis de aquellos mecanismos frente a las drogas que dependen de los medicamentos y de las bacterias; los mecanismos de acción de los medicamentos utilizados más comúnmente en la clínica, frente a las infecciones bacterianas; y se realizan consideraciones sobre los mecanismos más comunes relacionados con el origen de la resistencia. Se presentan nuevas drogas en fase experimental, no sólo antibióticos, sino de aquellas que surgen tratando de bloquear los mecanismos de resistencia conocidos. Se presentan algunas drogas recientemente aprobadas para uso humano en diciembre de 1999. Se describen los mecanismos que rigen la relación medicamento-parásito y los factores adicionales de esta relación *in vivo*, así como de la relación hospedero-parásito. Se comentan, además, algunos mecanismos que explican el por qué los antibióticos producen reacciones adversas.

BIBLIOGRAFÍA

- Bergeron MG. Zircin Effective Against Penicillin-Resistant *S. pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000;44:1010-18.
- Jawetz E et al. *Microbiología médica*. México D.F.: Ed. El Manual Moderno, 1995:163-98.
- Naismith JH. Novel Antibacterial Drug Target Identified in Saccharide Pathway. *Nat Struct Biol* 2000;7:398-402.
- Wong ChH. New approach to Antibiotic Resistance. *J Am Chemical Soc* 2000;122:5230-1.



La epidemia silente del siglo XXI. Resistencia antimicrobiana

Alina Llop Hernández

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

La resistencia a los antibióticos no ha podido ser detenida por barreras locales, nacionales o internacionales. Afecta a todos los individuos y poblaciones alrededor del mundo. La respuesta al problema debe venir de todos los grupos sociales.

El mal uso y el abuso de los antibióticos, ya sea en el hogar, hospitales, comunidades, con los animales, en la agricultura, pueden adicionar a las fuerzas del ambiente, a seleccionar y mantener cepas de bacterias resistentes.

El efecto aniquilador de los antibióticos es tan fuerte que sólo las bacterias resistentes pueden sobrevivir a su acción. Cuando este es la consecuencia de los tratamientos, podemos aceptarla, y usualmente resulta transitoria.

Los genes de resistencia de un grupo de bacterias pueden extenderse a diferentes tipos de ellas y a grandes distancias. No necesitan las bacterias de pasaporte para cruzar las fronteras entre países. Pueden, rápidamente, darle la vuelta al globo, haciendo eclosión en humanos, animales y productos alimenticios. Esta extensión puede resultar más rápida e insidiosa que cualquier otra posible. Significativamente, las cepas resistentes no tienen ninguna ventaja de subsistir si no hubiera antibióticos presentes. Aun, donde el uso es limitado, habrá bacterias con resistencia (Cuadro 11.1).

Cuadro 11.1.

Resulta irónico y paradójico que los *antibióticos*, los mejores agentes para tratar bacterias hasta el momento, sean los agentes más importantes de *selección y propagación* de las *bacterias resistentes*

Quizá resulta irónico y paradójico que los antibióticos, considerados todavía como los mejores agentes para el tratamiento de las infecciones, son los únicos y más importantes

agentes que seleccionan, y son causa de la propagación de las bacterias resistentes. Las dos caras del efecto de estas valiosas drogas hace que sea crucial su uso cuidadoso.

Expertos en Estados Unidos, han estimado que por lo menos la mitad del uso humano de los antibióticos, ya sea en la comunidad como en el hospital, resulta innecesario e inapropiado. Similares resultados o en algunos casos superiores han sido argumentados en otras partes del mundo, pero realmente la magnitud del problema mundial todavía se desconoce.

La actitud ante el consumo de los antibióticos de las personas, en general, desde su aparición ha variado muy poco a pesar de que su uso data de hace más de 50 años. A finales de los años 50, Henry Welch, entonces director de la División de Antibióticos del Ministerio de Salud de los EE.UU., expone en su libro de la Academia de Medicina de New York, *El impacto de los antibióticos en la medicina y la sociedad*, lo siguiente: "El público americano es como una esponja para los antibióticos, como esta es al agua".

¿Ha cambiado esta forma de pensar ya comenzando el nuevo siglo? Esa actitud ha persistido, y sin vislumbrarse un cambio ni en esta, ni en la próxima década. Estamos pagando el concepto de que "los antibióticos han constituido un verdadero milagro". Esto ha tenido su origen al inicio del descubrimiento y su denominación de "drogas milagrosas".

CONSECUENCIAS SOCIALES DEL MAL USO INDIVIDUAL

Además de los efectos secundarios que resultan factores de riesgos al individuo por el tratamiento con los antibióticos, mucho mayores efectos nocivos se producen a la sociedad por la extensión de su uso. El efecto producido va más allá del individuo. Su efecto ecológico, los efectos que sobre el ecosistema producen los cambios, son considerables. La selección de los antibióticos es sobre el ambiente, no justamente sobre el individuo, y la aparición de las formas resistentes de bacterias ejerce serios efectos sobre una buena parte de la sociedad. La selección de bacterias resistentes a los antibióticos ocurre en cada usuario, dondequiera que ellas se encuentren, en el tracto intestinal, en la boca, o en la piel. Estas consecuencias pueden ser aceptadas si realmente el uso del antibiótico constituye una necesidad médica, pero si no, el cambio de la flora bacteriana resulta innecesario y potencialmente dañino. La resistencia bacteriana puede moverse a los miembros de la familia y a otras personas (cuadro 11.2).

Cuadro 11.2. Cambios ecológicos producidos

-
- Las bacterias pueden moverse a otros miembros de su familia y a otras poblaciones bacterianas
 - Un efecto social se produce cuando estas valiosas drogas son utilizadas inapropiadamente
 - Una bacteria no es ella sola. Ella es ingerida, excretada y extendida en el ambiente, llegando a ser tal su integración, que se convierte en un *pool* común
-

Si bien muchas de esas bacterias no son capaces, directamente, de causar enfermedad a su portador, su resistencia es, con frecuencia, transferida; estas son las bacterias que potencialmente pasan su resistencia a bacterias patógenas al hombre con las que entran en contacto.

Un efecto social negativo se produce cada vez que nosotros hacemos uso inapropiado de esas valiosas drogas que llamamos antibióticos.

Stuart Levy, presidente de la Sociedad Americana de Microbiología y fundador de la APUA, señala en uno de sus tantos artículos dedicados a este tema lo siguiente: "los antibióticos son los únicos medicamentos que tratan a las poblaciones tan bien como al individuo". Una sola bacteria no es ella sola. Ella entra en contacto con el individuo, se multiplica, es excretada y de esa manera se extiende en el ambiente, convirtiéndose en parte de él. En consecuencia, la flora individual probablemente refleja la flora del ambiente donde ese individuo vive, el tipo de bacterias y la frecuencia de las resistencias de los que allí habitan.

La *E. coli*, una de las bacterias más ubicuas, puede mostrar bien lo que sucede en tal sentido. En un estudio realizado por Lester y col., se examinó la frecuencia de la resistencia

de esta bacteria. Se determinó el número de *E. coli* resistentes en las heces de niños menores de 2 años, en tres áreas geográficas diferentes, en ciudades distantes de tres continentes: Caracas, Venezuela, Qin Pu, China y Boston, en EE.UU. Se obtuvieron los siguientes resultados: en las tres ciudades, la mayoría de los niños había tomado, por lo menos alguna vez en su vida, antibióticos. Dentro de los varios cientos que se entrevistaron, sólo menos del 10 % no lo había hecho; pero este grupo prácticamente estaba integrado por niños menores de 1 un año. Precisamente en ese grupo, se probaron las *E. coli* resistentes frente a ocho drogas. Se encontró que en Boston solamente unas cuantas *E. coli* fueron resistentes a alguna de las drogas, y las bacterias resistentes se encontraban en un bajo número. Este no fue el caso de las otras dos ciudades. En ellas, la flora de los menores de 1 año se mostró con un gran número de bacterias resistentes y multirresistentes. ¿Por qué la diferencia?, ¿cuál es el misterio? Sólo una conclusión fue muy evidente: en China y en Venezuela resulta más fácil obtener un antibiótico que en Boston. Por lo que se deduce de este estudio que el uso de los antibióticos en una sociedad determina la flora nativa de cada individuo y de esa sociedad. En el estudio en los niños menores de 1 año esto pudo ser comprobado.

¿CUÁL FUE LA PRIMERA EVIDENCIA DE LA RESISTENCIA BACTERIANA?

Prácticamente desde el comienzo del uso de los antibióticos en la década de los 40 o a finales de ella, microbiólogos y clínicos comenzaron a detectar resistencia a estas drogas y trópida evolución de los casos tratados con las llamadas “*drogas milagrosas*”.

El uso de la penicilina como única droga, al principio, estableció un precedente de que esta podía ser usada ante cualquier infección y fue así, prácticamente la única, por casi 10 años. Es precisamente en Inglaterra donde se reporta por primera vez la aparición de la *resistencia* a la penicilina, en un agente muy ubicuo en hospitales y en la comunidad, el estafilococo. Muy pronto el mundo se enteró de que esta resistencia estaba ya extendida para la droga maravillosa, que salvó muchas vidas de los pacientes quemados de Cocanut Grove Crowd en noviembre de 1942. Alexander Fleming en 1945 advertía en EE.UU. que el mal uso de la penicilina pudiera ocasionar la selección y propagación de formas mutantes en el laboratorio. Fleming, asustado porque lo que había visto en el laboratorio se reprodujera en el paciente, sentenció la necesidad de cursos de tratamientos completos, ya que tratamientos insuficientes resultaban más apropiados para la selección de bacterias resistentes y propiciar su crecimiento. Y predijo más, que la situación podía tornarse peor, cuando la droga pudiera obtenerse en una fórmula para dispensarla por vía oral. La droga puede ser vigilada en su uso en el hospital, pero no así en la comunidad.

Indudablemente, Fleming se anticipó a un fenómeno que hoy, a más de 50 años, padecemos y con más fuerza: la *resistencia bacteriana*. Pero parece que Fleming nunca imaginó el real alcance de la situación creada por el uso indebido de los antibióticos: su extensión por todo el mundo. La euforia sufrida con la aparición de la penicilina comenzó a declinar entre los años 60 y 70. Los estafilococos con ubicación intrahospitalaria comenzaron a irrumpir en la comunidad, obligando a la búsqueda de otros antibióticos para dar respuesta al problema. Desde finales de 1970 y hasta principios de los 80 en Melbourne, Australia, una epidemia de estafilococos resistentes azotó a los hospitales de esa región, siendo la responsable de muchos fallecimientos en esa área. En aquellos momentos, la cepa circulante resultaba resistente a todos los antibióticos conocidos de primera línea. Sólo un antibiótico, la vancomicina, resultó efectivo, una droga costosa, potencialmente tóxica y, por lo tanto, de uso cuidadoso. Hoy, tres décadas después del evento de Melbourne con el estafilococo, nos enfrentamos a una peligrosa consecuencia: la adquisición de la resistencia emergente del enterococo a la vancomicina. La resistencia a la vancomicina está mediada por tres determinantes diferentes, dos de las cuales son transferibles. Debemos estar alerta para tratar de evitar un desastre similar en el futuro.

Otro fenómeno impactante ocurrió también en los años 80 en Zaire, por la multirresistencia de una *Shigella dysenteriae*, que causó un gran número de muertes en esa población. Esta bacteria resultó resistente a todos los antibióticos de uso común en los casos de diarreas con sangre. Sólo el ácido nalidíxico resultó efectivo pero, su aplicación, tardía. Un año después de su introducción comenzó a evidenciarse la resistencia.

Estos eventos en nuestros días se suceden en la comunidad en forma de brotes, como su manifestación más frecuente. En Cuba, por ejemplo, la *Salmonella typhi* desde la última década se ha ido presentando en forma esporádica en algunas regiones del país, y hasta 1997 no había mostrado resistencia *in vitro* a las drogas comúnmente utilizadas. Sin embargo, en 1998 y 1999 mostró resistencia *in vitro* a dos drogas, lo que nos sugiere un alerta al respecto. Recordemos que a un alto nivel de resistencia precede un bajo nivel de resistencia.

¿POR QUÉ SE SUCEDE EL CAMBIO DE SENSIBLE A RESISTENTE EN LAS BACTERIAS?

Todo lo que hemos expresado hasta ahora está relacionado con el uso y el mal uso, o uso indiscriminado de los antibióticos por el hombre y cómo ello repercute en la sociedad y en el individuo. ¿Qué sucede en las bacterias? La presión selectiva que se ejerce sobre los antibióticos incide sobre las mismas y determina una serie de mecanismos conocidos y otros por conocer que aseguran la adquisición de la resistencia (Cuadro 11.3).

Cuadro 11.3.

¿Por qué el cambio?

- Por la presión selectiva ejercida por los antibióticos
 - Por los mecanismos hasta el momento descritos de adquirir *resistencia*
-

Hasta hace sólo algunos años se expresaba el término resistencia ubicado en el contexto hospitalario. Sin embargo, hoy se conoce el papel tan significativo de la comunidad en este fenómeno biológico, que el hombre con todo el poder de la ciencia no ha logrado detener: *la resistencia bacteriana*. Muchos hombres de ciencia estudiosos del fenómeno, conceden a la comunidad un papel preponderante. El compromiso no ha sido suficiente para contener lo que está sucediendo, todo lo contrario. Ya hemos hecho referencia con anterioridad a los cambios ecológicos del uso de los antibióticos y cómo estos, a su vez, repercuten en la sociedad y el individuo.

PERO...¿CÓMO EL INDIVIDUO OBTIENE LOS ANTIBIÓTICOS?

En primer lugar se encuentra el protagonismo de los prescriptores, los médicos, veterinarios, farmacéuticos, y los funcionarios de Salud que los adquieren y distribuyen. Este protagonismo no es igual para cada uno de ellos, ni se desarrolla igualmente en todos los ambientes sociales ni económicos. Presentan variables y marcadores diferentes. Lo que sí pudiera permitirnos alguna comparación muy primaria, pero sumamente importante, es cuán obligatoria resulta la prescripción para que el individuo pueda adquirir la droga (ver Cuadro 11.4).

Cuadro 11.4.

Cómo se obtienen los antibióticos?

- Protagonismo de los que prescriben
 - En los países desarrollados tienen un pequeño acceso formal a la prescripción
 - En los países en desarrollo existen caminos múltiples que llevan al antibiótico sin la prescripción
-

La situación con la prescripción se presenta bien diferente si se trata de un país desarrollado. En ellos, la prescripción resulta de obligatorio cumplimiento. Sin embargo, en las economías globalizadas todo tiene un precio y la práctica privada de la medicina hace que hoy la práctica médica se enmarque en el lenguaje de la gerencia. Todo está en la presión que el paciente, o mejor dicho, el cliente, ejerza sobre el médico. La complacencia se convierte en

parte del negocio, no la satisfacción de la necesidad. En este caso, la presión selectiva del antibiótico sobre la bacteria, estará condicionada a la ética del prescriptor y a la conciencia que este tenga del fenómeno.

RESISTENCIA

En cuanto al que tiene que tomar la decisión, con relación a qué comprar para el sistema de salud del cual se trate, intervienen en ella una serie de determinantes que incidirán indirectamente en los resultados. En primer lugar, de qué sistema estamos hablando; de qué país, desarrollado o en desarrollo; si tiene o no una planificación establecida de los renglones a comprar, no determinado por la necesidad, sino por la disponibilidad económica que en ocasiones resulta la primera determinante. El criterio técnico del uso racional no es siempre la primera cosa a tener en cuenta por los que deben decidir.

Las desafortunadas consecuencias están en gran medida dadas, o más bien marcadas, por estas determinantes. Y puede ocurrir que, tanto en economías desarrolladas, como en desarrollo, los tratamientos con antibióticos, aunque sean bien impuestos, no son ejecutados como se indican; puede suceder una utilización por debajo de la indicación, que va a traducirse no sólo por un mal tratamiento, sino por la selección de bacterias resistentes. En aquellos países donde los pacientes tienen bajos ingresos, en su mayoría lo hacen en consultas externas por síndromes respiratorios o diarreicos, que son las morbilidades más prevalentes. Estos pacientes pueden recibir una indicación correcta, pero su economía sólo les permite la adquisición de una sola dosis del medicamento. Esta situación se hace común en países de África, Asia y de América Latina. En África se puede observar también cómo los individuos de la comunidad se ven atraídos por los colores que presentan los medicamentos.

En Indonesia existen estudios que demuestran que más del 65 % de los pacientes atendidos en consulta externa son tributarios de antibióticos. Esos mismos estudios revelaron que sólo uno de cada cuatro pacientes, era capaz de adquirir la mitad del medicamento indicado. Estudios similares en República Dominicana demostraron que el 70 % de los pacientes era portador de una enfermedad infecciosa aguda, y que ellos nada más recibían medicamentos para un solo día, por lo cual el resto del tratamiento dependía de una prescripción que debían comprar y que no lo hacían por problemas económicos. Esta práctica, evidentemente, no resuelve la curación del paciente, pero sí contribuye a la selección y propagación de bacterias resistentes.

En diferentes países latinoamericanos se observa la existencia de un mercado negro de medicamentos, expendio sin recetas y sin conocimiento cierto de que lo que allí se vende, sea realmente lo que dice en el frasco. La observación se extiende también a los medicamentos que se introducen en los países pobres como ayuda humanitaria y que no son controlados en su uso, los que en oportunidades se reciben en dosis incompletas o con una incorrecta indicación (Cuadro 11.5).

Cuadro 11.5

Uso de los antibióticos por debajo de los requerimientos

Conlleva consecuencias desafortunadas por:

- Uso de una sola dosis
- La búsqueda en el mercado negro

Se produce:

- Fallo del tratamiento
- Selección y propagación de bacterias resistentes

Como vemos, muchos son los caminos que contribuyen o conducen a la selección y propagación de las bacterias resistentes.

¿QUÉ PAPEL DESEMPEÑA LA INDUSTRIA PRODUCTORA DE ANTIBIÓTICOS EN EL FENÓMENO DE LA RESISTENCIA DE LAS BACTERIAS A LOS ANTIMICROBIANOS?

La industria farmacéutica, en general, desempeña un papel importante en el fenómeno que analizamos. Es un papel integral, pues no sólo se relaciona con el desarrollo de nuevas drogas y ponerlas a la disposición de los usuarios, sino también de las drogas antibacterianas ya conocidas. Muchas de estas drogas, si no casi todas, han sido desarrolladas bajo los auspicios de la industria farmacéutica que sitúa, para el desarrollo de los nuevos productos, el capital de riesgo necesario. Puede considerarse que desde el surgimiento de la penicilina a principios de la década del 40 (incluyendo el desarrollo de esta), la industria invertía capitales multibillonarios, mucho mayores de lo que hace actualmente. Este esfuerzo garantizó nuevos antibióticos, los cuales fueron introducidos para su producción y han servido para dar respuesta a infecciones severas durante medio siglo en todo el mundo. La industria ha ejercido una función social importante. Pero... al igual que los médicos y veterinarios son responsables de prescripciones inapropiadas de antibióticos, la industria también ha contribuido al problema del mal uso de los antibióticos (Cuadro 11.6).

Cuadro 11.6.

Papel de la industria

- Depende de la sociedad a que responda
- Resulta crítica la *acción regulatoria nacional*

No siempre las técnicas de ventas para los antibióticos, utilizadas por la industria para uso en un país donde estos son vendidos, son consistentes, y en algunos casos simplemente no son éticas. Las industrias sólo se basan en las regulaciones de ventas que cada país exige. El nivel de desarrollo de cada país presentará las diferentes fronteras y, por lo tanto, el nivel de protección del individuo y del medio ambiente variará de un país a otro. La actividad regulatoria de cada país responderá al marco legal donde puede moverse la introducción y extensión de un producto farmacéutico cualquiera, ese es el caso de los antibióticos.

El papel regulatorio más importante lo tendrá, sin dudas, el consumidor (la farmacia del hospital, las autoridades de salud, los planificadores) y los prescriptores.

La industria que tiene un nuevo producto trata de introducirlo cuanto antes en el mercado, lo que realiza a través del médico, y vendiéndolo en las farmacias, tratando de recuperar rápidamente lo invertido en el menor tiempo posible. Esta es la situación que se palpa en el mercado mundial y muy presionado en el mercado latinoamericano. Una situación de emergencia se prevé que puede surgir en el mundo en desarrollo, como surgió en Zaire, o en Centroamérica, con la *Shigella dysenteriae*.

Otro capítulo interesante de la industria como promoción (que todavía es utilizado en los países de menor desarrollo), resulta la venta de antibióticos en fórmulas combinadas. En países desarrollados de nuestra región ya eso está regulado; en 1999, la Comunidad Económica Europea dictó una medida para suprimir tal práctica en el caso de algunas combinaciones.

¿Y QUÉ PASA CON LOS ANIMALES Y LAS PLANTAS?

Se conoce que los antibióticos son utilizados como agentes promotores del crecimiento y el peso de animales que posteriormente sirven para la alimentación del hombre. Ello está siendo objeto de continuas discusiones en el ámbito internacional, y continuará a medida que se encuentren y acumulen más datos. Mucha presión se ejerce en tal sentido relacionada con el usuario de los productos y sobre la procedencia de los animales de consumo humano.

El uso de los antibióticos en la agricultura ha sido variado, las aplicaciones han sido diferentes a lo acontecido en los animales y con las personas. Las ramificaciones ambienta-

les que se producen por el empleo de pequeñas dosis de antibiótico pueden llegar a ser significativas en la selección de variantes de resistencia. Algunas de estas pueden ser a través de plásmidos de resistencia y transposones, trayendo problemas directos a la agricultura.

En última instancia, quien tiene la palabra sobre qué hacer con la resistencia es la sociedad, donde el fenómeno más impacta, ella es quien tiene que exigir la regulación.

El gran dilema de la sociedad mundial contemporánea estriba en que los antibióticos siguen siendo universalmente usados; las bacterias, por lo tanto, continúan adquiriendo resistencia y multiresistencia, lo que complica más la situación de las personas necesitadas de un urgente tratamiento antibacteriano.

La industria, por su parte, no se ha desarrollado al mismo ritmo que las bacterias han ido adquiriendo los mecanismos conocidos de resistencia y nuevas determinantes surgen cada día. ¿A qué se enfrenta el nuevo siglo? ¿Cuáles serán las consecuencias de este dilema mundial?

No resulta casual que se exprese que estamos arribando a una “nueva enfermedad emergente”, muy extendida en el mundo y que hasta el momento no tiene cómo controlarse, lo que se ha dado en llamar: *la epidemia silente de este siglo*.

GLOBALIZACIÓN Y RESISTENCIA

Los viajes internacionales y negocios, así como el turismo, contribuyen también a la resistencia. La región de las Américas puede recibir un microorganismo en 24 horas escasas que provenga de África del Sur o del Sudeste Asiático. Los Estados Unidos publicaron recientemente que los brotes mayores de *S. typhi* multiresistentes, reportados, han tenido su origen en seis países en desarrollo. Un hecho parecido sucede con las bacterias productoras de Tb que presentan resistencia o multiresistencia, en su mayoría producto de fallos de tratamiento; el ejemplo más reciente puede observarse en la Europa del Este, lo que constituye un peligro potencial para el mundo, la extensión de este fenómeno (Cuadro 11.7).

Cuadro 11.7. Globalización de la resistencia

Diarrea del viajero	30 000 - 80 000
Gonorrea	200
Fiebre tifoidea	33
Enfermedad meningocócica	0,06

× 100 000 viajeros procedentes de países en desarrollo.

Fuente: WHO/CDS/2002. Modificado.

La OMS/OPS ha creado grupos de expertos desde hace 2 años para el estudio del problema y, en consecuencia, de su abordaje. Los ministros de Salud de los países han mostrado su preocupación por el fenómeno sin que se vislumbre la solución a corto plazo (Cuadro 11.8).

Cuadro 11.8

¿Qué sucede en el mundo?

- La OMS/OPS ha creado grupos de expertos
- Los ministros de los países en estos organismos se han pronunciado preocupados sobre el problema
- Las industrias farmacéuticas multinacionales no han dado aún respuesta satisfactoria al problema de la resistencia.

ALGUNOS EJEMPLOS DE RESISTENCIA BACTERIANA A LOS ANTIBIÓTICOS EN CUBA

Autores cubanos han trabajado desde hace más de 15 años en el fenómeno de la resistencia antimicrobiana y, sobre todo, en la última década, en el cuadro de morbilidad y mortalidad de la población del país por enfermedades infecciosas y en apoyo a los programas de Control de estas enfermedades. Existen publicaciones sobre el comportamiento de la resistencia del *M. tuberculosis*, *S. pneumoniae*, *Salmonella*, *Shigella*, *Haemophilus influenzae* y otros. Se presentan ejemplos del comportamiento en años de algunos de ellos y se brindan varios de los resultados obtenidos y publicados.

En Cuba, en un estudio realizado en 365 cepas estudiadas de *S. pneumoniae*, en sólo 6 años aumentó progresivamente la resistencia a la penicilina, y ascendió en el 32 % la susceptibilidad intermedia. Lo más alarmante es lo que está sucediendo en la comunidad con esta misma droga, donde la resistencia obtenida en 1 año en portadores, es ya de 61,4 % a la oxacilina. La concentración y el tiempo de utilización de la dosis parece tener implicaciones en la resistencia para todas las drogas, lo que repercute también en la comunidad.

En el caso de *Haemophilus influenzae b* (Hib), antes de aplicar la vacuna en Cuba representaba el agente etiológico de más del 33 % de todas las meningitis bacterianas. En 1999, después de la aplicación de la vacuna, la morbilidad descendió en un 59 %. El Hib ha ido mostrando alta resistencia, inclusive, a drogas como la ceftriazona a partir de 1997 y un 40 % de cepas con actividad betalactámica. Los *Haemophilus* no capsulados se han reportado en niños portadores, con una resistencia más alta que la de los Hib capsulados para la tetraciclina y el cloranfenicol.

En *Shigella*, en un estudio de 250 cepas procedentes de enfermos, sólo se observó aumento estadísticamente significativo de la resistencia a la droga que hoy se utiliza como de elección para la shigelosis, el ácido nalidixico. El resto de las drogas probadas no ha modificado en 10 años su patrón de resistencia. A la gentamicina mostró resistencia un 2,5 %.

Un estudio en *Salmonella typhi* en los cinco años de vigilancia que se evaluaron (1995 al 1999), mostró resistencia a la ampicilina en los tres últimos, por lo que no se debe abandonar la vigilancia sistemática de la resistencia. En 1998 y 1999 fue detectada resistencia al cloranfenicol (21 y 22 %), TMS (41 y 46 %) y surgió un 12 % al ácido nalidixico.

Hasta 1997 para *Neisseria meningitidis B* no había sido reportada resistencia a la penicilina y si susceptibilidad intermedia, la que en 10 años de vigilancia ha transitado de 24 a 88,9 %. Estudios sobre el uso indiscriminado de la penicilina contra *N. gonorrhoeae*, han manifestado que en poco tiempo se ha ido produciendo un aumento progresivo de la resistencia a esta droga, de 54 a 63,6 %, con incremento progresivo de la susceptibilidad intermedia y con una producción de betalactamasa de 60 %. Los perfiles plasmídicos de *N. gonorrhoeae* encontrados en 1989 y 1998 han presentado grandes diferencias, observándose cepas PPNG-TRNG en el 69,24 %, o sea, *Neisseria gonorrhoeae* productoras de penicilinasas y con el alto grado de resistencia a la penicilina y a la tetraciclina. Comparando los datos obtenidos de resistencia bacteriana de los patrones de Cuba con los de otros países, estos son bien diferentes a los del resto del mundo.

Mientras el problema de la resistencia se convierte en un problema cada vez más serio para el mundo desarrollado, este se convertirá en un nuevo incentivo para la industria farmacéutica. Existe poco optimismo. ¿Se obtendrán resultados?

RESUMEN

El problema de la resistencia de las bacterias a los antibióticos no es un problema del individuo, ni de la comunidad; es una cuestión que va más allá de las fronteras entre un país y otro.

El problema de la resistencia de las bacterias a los antibióticos no es local, ni nacional, resulta internacional y afecta a la política de consumo a todos los niveles, y, por ende, a la decisión política relacionada con ella.

Hasta tanto la resistencia bacteriana no forme parte de la política de uso de los antibióticos conscientemente y la ciencia no trate de buscarle salida al problema, lo que se puede esperar

es, seguramente, el surgimiento de la resistencia de todos los microorganismos, y eso ya está sucediendo.

El hombre, el actor más importante de este nuevo teatro, con quien se encuentra el 2001 en el campo de la medicina, tiene la última palabra, pues la naturaleza ya ha trazado su estrategia. ¿Cómo nos prepararemos para la epidemia silente del 2001, “la resistencia a los antimicrobianos”? La lucha contra los microorganismos patógenos ha adquirido, para este siglo, una nueva dimensión.

¿Llegaremos a la resistencia total? Este es un reto que debemos de enfrentar, con la seguridad de que en los próximos 20 años no se avizora una solución.

BIBLIOGRAFÍA

- Guillemot D et al. Low dosage and long treatment duration of Betalactam. JAWA 1998;279:365-9.
- Jawetz E et al. Microbiología médica. 15ta ed. México D.F. Ed. El Manual Moderno SA, 1996.
- Levy S. The Antibiotic Paradox. Plenum Press, New York and London, 1992.
- Llop A et al. Resistencia a los Antimicrobianos y Vigilancia Microbiológica en Cuba. En :Resistencia antimicrobiana en las Américas: Magnitud del problema y su contención. Ed. OPS/HCP/HCT/163/2000;116-23.
- . Resistencia a los Antimicrobianos y Vigilancia Microbiológica en Cuba. Rev Pan Infect 3 Supl, 1, 1999.
- Low D, Scheld WM. Strategies for stemming the tide antimicrobial resistance. JAWA 1998;279:394-5.
- Martínez I, et al. Detección de cepas de *Neisseria meningitidis* con susceptibilidad intermedia a la penicilina. Enferm Infec Microbiol 1997;17:23-6.
- . Estudio longitudinal de la sensibilidad por concentración mínima inhibitoria en cepas de *Neisseria meningitidis*. Enferm Infec Microbiol 1996;16:74-9.
- Neu HC. The crisis of antibiotic resistance. Science 1992;257:1064-73.
- Obreros S, Montiel M, Henderson D. The pneumococcal problem. Br Med J 1996;12:1521-25.
- Ramírez MM, Marrero M, Monté RJ et al. Resistencia a la ampicilina mediada por plásmidos R en cepas de *Shigella flexneri*. Rev Cub Med Trop 1994;46:148-51.
- Ramírez M.M, Monté RJ, Bravo L, García B. Estudio de la susceptibilidad de cepas de *Shigella* aisladas de niños con enfermedad diarreica aguda. Enferm Inf Microbiol 1996;16:91-2.
- Romero Cabello R. Microbiología y Parasitología Humana. 2da ed. México: Ed. Médica Panamericana, 1999.
- Sosa J, Patton AS, Martínez I. Estudio de plásmidos en cepas de *Neisseria meningitidis* con sensibilidad disminuida a la penicilina. Acta Cientif. SVBE 1994;3:15-8.
- Valdivia JA et al. Resistencia a drogas antimicrobianas a cepas de *Haemophilus influenzae* b aisladas de pacientes con Síndrome Neurológico Infeccioso. Rev Cub Med Trop 1995;45:173-6.
- World Health Organization. Report on Infectious Diseases 2000. WHO/CDS/2002.
- . Global Tuberculosis Programme. Antituberculosis Drug Resistance in the World. The WHO/IUTLD. Geneva: 1997.

SECCIÓN II

Interacción hospedero - parásito



Capítulo 12

Fundamentos de la ecología

Natalio N. Svarch Scharager

INTRODUCCIÓN

Los seres vivos no se conciben sin el medio, seres y medio constituyen una unidad esencial. En este se establecen relaciones entre ellos. Estas relaciones entre los seres vivientes y el medio que los contiene, son el objetivo de la ecología. La unidad ecológica es el ecosistema definido por Harris: “Como la comunidad de seres vivientes y su medio exterior”.

Es necesario la definición de términos muy utilizados en ecología tales como: biomasa, biocenosis, biotopo, factores bióticos y abióticos, ecosistemas, hábitat, nicho ecológico y biosfera.

La *biomasa* es un conjunto de materia viva y el *biotopo* es el lugar o sitio donde hay una biomasa. Al conjunto de materia viva del planeta tierra se le denomina *biomasa* o *bioma* (se considera a la totalidad de la biomasa), la cual está constituida por diferentes especies.

Cuando analizamos las características de una biomasa que se encuentra en un biotopo y las conocemos y describimos, estamos señalando los *factores vivos* o *bióticos* que están en dicho biotopo. Un sitio dado puede contener también elementos sin vida o *abióticos*.

Cuando la biomasa se halla en equilibrio se establece la biocenosis. Un sistema es un conjunto de elementos que siguen una determinada función, por lo cual un *ecosistema* es una biocenosis en un biotopo determinado; pudiéramos decir entonces que la *biocenosis* es un conjunto de seres vivos, tan bien ordenados, que están en equilibrio en un sitio más o menos definido o biotopo.

Existen diferentes tipos de ecosistemas: los acuáticos, los terrestres y los aéreos. Se denomina *biosfera* al conjunto de ecosistemas del planeta tierra.

Otros términos muy utilizados en ecología son: *hábitat* y *nicho ecológico*. El primero es el sitio donde vive una especie y el segundo, es la función que un organismo tiene dentro de un ecosistema.

Las relaciones entre individuos de una especie se conocen como *relaciones intraespecíficas*; las que se producen entre individuos de diferentes especies se denominan *interespecíficas*.

RELACIONES ENTRE LOS SERES VIVOS

Las relaciones entre los seres vivos se clasificaron, esquemáticamente, en las siguientes categorías, según su ubicación en las cadenas alimentarias.

1. Comensalismo.
2. Mutualismo.
3. Saprofitismo.
4. Parasitismo.

En la depredación, un organismo llamado depredador se alimenta de otro nombrado presa; esta relación es positiva para el depredador y negativa para la presa.

El *comensalismo* es la relación interespecífica donde un organismo denominado comensal, vive en otro llamado hospedero sin causarle daño.

El *mutualismo* es la relación interespecífica que es favorable para ambas especies.

La diferencia entre mutualismo y simbiosis corresponde a que en la primera la relación es conveniente, mas no es indispensable, como se requiere para la simbiosis.

En la competencia, una especie compite con otra. Esto se produce en función de ganar el alimento o el territorio.

El *parasitismo* es la relación interespecífica en la cual un organismo vive a expensas de otro durante toda su vida o parte de ella provocándole daño o no, aparente o inaparente.

La *antibiosis* corresponde a la relación interespecífica en la que un organismo produce, libera o genera una sustancia, producto o elemento que inhibe la vida de otros organismos.

Históricamente muy útiles, ordenaron este capítulo de la biología. Con el desarrollo de los conocimientos, como es natural, se tornaron esquemáticas; veremos que en muchos casos es difícil o aun imposible aplicarlas; hoy sabemos que las categorías, estáticas, fijas, invariables, no existen en la naturaleza, donde todo es más dinámico.

En particular las especies microscópicas y macroscópicas parásitas del hombre y animales capaces de enfermarlos, al establecer relaciones con los microorganismos parasitados, desencadenan procesos reactivos, complejos, que en los vertebrados, filogenéticamente, llevaron al desarrollo de un sistema especial, el sistema inmunitario. Las relaciones entre parásitos y hospederos, en el nivel de los vertebrados, también debe incluirse en el estudio de la parasitología y microbiología médicas.

En este momento del desarrollo del conocimiento, el concepto de parasitismo se amplió; se aplica desde los artrópodos hasta los virus, los priones y sus moléculas biológicamente transmisibles. El viejo significado del término parasitismo era aplicado a los que restringidamente se llamaban parásitos, sobre todo los helmintos y artrópodos, y para algunas escuelas también los protozoarios.

Con esta concepción casi se homologan los términos parasitismo e infección, conservándose aún los términos *infección* para el caso de parásitos microscópicos e *infestación*, para los macroscópicos.

Esta concepción amplia del parasitismo es, fundamentalmente, muy fértil para el médico desde los puntos de vista clínico y epidemiológico.

Comprendido así el parasitismo, en su amplia acepción, es una interrelación (recíproca) entre dos términos: hospedero y parásito.

Intentar definir el concepto de parasitismo y el de infección (o infestación) no es posible en la forma clásica de una definición. Es un concepto, no una definición.

El parasitismo es el resultado de un largo proceso filogénico; lo que vemos actualmente, como en un abanico que se despliega, son las formas que corresponden a estadios diferentes de un proceso no lineal, que no parte de una especie y no sigue un mismo camino. No se debe olvidar que el parasitismo es una interrelación mutua, recíproca, dialéctica, entre individuos de distintas especies. El capítulo de las adaptaciones anatómicas a la vida parasitaria es altamente ilustrativo; eso es sólo el resultado visible de un proceso que no se ve, enormemente largo, de adaptaciones dinámicas, fisiológicas, al comienzo reversible, obligadas después, ante los mecanismos de adaptarse a cambios en el ambiente. La adaptación (resultado de la propiedad esencial, *sine qua non*, de los seres vivientes), la reactividad y los cambios fisiológicos consecutivos, son la causa; la imagen anatómica es el resultado, el efecto.

ORGANISMOS SAPRÓFITOS

Desde un punto de vista didáctico, definiremos como organismos *saprófitos* o *saprotíficos* a aquellos que nunca interfieren en el funcionamiento normal de su hospedero o que no habitan sobre animales o vegetales vivos. Estos organismos viven, normalmente, sobre materias inanimadas o en sustancias orgánicas muertas y en descomposición.

Las bacterias del género *Clostridium* nos presentan, de entrada, particularidades que ayudan a romper con conceptos esquemáticos. *Clostridium botulinum* no es habitualmente parásito, su toxina elaborada fuera del organismo, enferma y mata; nadie duda de que es patógeno, tenemos un caso no común: un saprófito muy patógeno, si por patógeno entendemos capaz de producir enfermedades. ¿Es lo mismo que la ingestión de un hongo microscópico venenoso (*Amanita phallospia*, por ejemplo)? Cualquiera, sin pensarlo, contesta que no es lo mismo. ¿Cuál es la diferencia?, que una es una bacteria y la otra o el otro es un hongo superior.

Se ve con claridad que la distribución es arbitraria, pero históricamente, por hábito, no se piensa de inmediato en la arbitrariedad.

En este otro ejemplo de las definiciones metafóricas, nada impide que sea saprófito, pero es patógeno como muchos parásitos.

¿Se debe abrir un capítulo de saprófitos patógenos? Lo que sí queda muy claro es que no se consideran las circunstancias y las condiciones reales del fenómeno, y que en la naturaleza del agente que le permite crecer y multiplicarse, su condición saprotífica es absoluta. Su patogenicidad es relativa, requiere condiciones muy especiales.

RESUMEN

Los seres vivos y el medio constituyen una unidad esencial. Las relaciones entre los seres vivientes y el medio son el objeto de la ecología. La unidad ecológica es el ecosistema.

La cadena energética que se produce en las relaciones entre los seres vivos se mantiene en equilibrio en un biotopo y se establece lo que se conoce como biocenosis, la cual se define como biomasa en equilibrio en un biotopo.

La biosfera es la franja del planeta donde se encuentran los seres vivos y el bioma está representado por todo el conjunto de seres vivos.

En las diversas comunidades existen relaciones interespecíficas e intraespecíficas, según estas se den entre organismos de la misma especie o de especies diferentes.

BIBLIOGRAFÍA

- Bernard C. Introducción al estudio de la medicina experimental (De la duda en el razonamiento). Flammarion. París, 1952.
- Grumbach A, Kikut W. Le malatie infettive umane e i loro agenti patogeni. T. I. Turin: Ed. Minerva Medica, 1961.
- Harris DR. Agricultural systems, ecosystems and the origins of agriculture. Vcko y Dymbly. Ed. Londres, 1971.
- Osler W. The principles and practice of medicine. Appleton and Co. New York, 1892.
- Sabes V. Obras escogidas. Vol. I. Rumania: Ciencias-Bucarest, 1979.



Flora indígena del cuerpo humano

Daisy P. Rodríguez González

INTRODUCCIÓN

El feto humano en condiciones normales está libre de microorganismos y es en el momento del nacimiento que se expone a ellos. La colonización microbiana del neonato comienza con su paso a través del canal del parto, donde se expone a la flora de la vagina de la madre y continúa, después del nacimiento, con la exposición a los microorganismos del medio ambiente y de los que colonizan al personal del hospital u otros individuos que se relacionan con el recién nacido.

Esta exposición lo conduce a unos de estos tres resultados: la colonización persistente, la colonización transitoria o la interacción patógena.

Después de un corto tiempo, el niño desarrolla su propia flora microbiana indígena. Esta flora indígena, también conocida como *flora normal*, va a experimentar cambios, en función de los cambios en el individuo como, por ejemplo: edad, tipo de alimentación, y en función del medio ambiente donde se encuentre.

La flora normal del hombre está constituida, principalmente, por bacterias. Algunos hongos y protozoarios pueden encontrarse formando parte de la misma, pero en un número mucho menor y de modo habitual no se considera a los virus, porque su presencia en algunos tejidos como flora es discutible.

Algunos hongos levaduriformes y muchos bacilos gramnegativos no fermentadores, que se hallan en el suelo, el agua, los productos alimenticios, son incapaces de establecerse sobre la piel o mucosas y su hallazgo en especímenes clínicos es considerado insignificante. Estos microorganismos son incapaces de competir con la población microbiana normal del cuerpo y no pueden sobrevivir sobre la superficie de la piel.

Sin embargo, otros organismos son capaces de establecerse por períodos largos sobre o en el cuerpo humano y el éxito de esta interacción está dado por factores del microorganismo y del hospedero como: la humedad, el pH, los nutrientes; la adherencia a las superficies, las bacteriocinas, los fenómenos de fagocitosis, entre otros.

Numerosas especies bacterianas habitan en diversas localizaciones del cuerpo humano, sin causar daño, en una relación simbiótica y pueden hasta resultar beneficiosas para el hombre; pero cuando alguna de estas especies residentes de un determinado lugar, invade otros sitios del cuerpo humano, normalmente estériles, como tejidos o fluidos corporales, pueden producir enfermedad, y en ese caso se consideran *patógenos oportunistas*. El traumatismo

menor que se produce en una sigmoidoscopia, en la aplicación de un enema de bario o en un tacto rectal, puede inducir una bacteriemia transitoria por los microorganismos de la flora indígena del intestino y esto ocurre en aproximadamente el 10 % de este tipo de procedimientos.

Parte de la flora microbiana normal habita en la piel, pero una mayoría vive en las superficies internas del organismo como son: las membranas mucosas que revisten las fosas nasales, la boca, el tracto respiratorio superior, intestinal y genitourinario; pero la sangre, el líquido cefalorraquídeo, los órganos y tejidos internos, están normalmente libres de microorganismos y su presencia en estas localizaciones es evidencia de que el individuo está infectado.

Las bacterias residentes están adaptadas a la vida comensal y en circunstancias normales consiguen vivir sin causar ningún daño a su hospedero. La presencia cuantitativa y cualitativa de los microorganismos específicos, puede variar con el hospedero individual, incluyendo los cambios que se producen al cambiar de medio ambiente, como ocurre en el transcurso de una hospitalización. Muchos organismos no pueden ser detectados cuando se presentan en una población mixta, que es lo habitual en muchos sitios del cuerpo humano, y su presencia no induce respuesta por parte del hospedero, ya que esta respuesta pudiera conllevar su propia eliminación. Por otra parte, habitualmente no se considera a los virus como parte de la flora indígena, porque su replicación está, en general, asociada con la destrucción de los tejidos del hospedero o respuesta inmunológica, que puede ir desde una infección clínica asintomática hasta la muerte del hospedero.

De cualquier modo, debemos tener presente que la mayoría de las enfermedades en el humano son causadas por infecciones con bacterias y levaduras endógenas o por exposición a levaduras, parásitos y virus oportunistas.

FLORA INDÍGENA DE LAS DIFERENTES LOCALIZACIONES

Vamos a referirnos a los microorganismos que con más frecuencia se recuperan de las diferentes localizaciones, porque el hecho de la dificultad en el aislamiento de microorganismos individuales de una flora mixta, unido a los cambios en la taxonomía y los cada vez más sofisticados sistemas de identificación, hacen imposible el poder ofrecer un listado actual y completo de la flora microbiana de cada localización del cuerpo humano.

PIEL

En la piel humana normal, el número de microorganismos generalmente es de 10^3 - 10^4 microorganismos/cm², pero en áreas con características de humedad, puede ser tan alto como 10^6 microorganismos/cm².

La limpieza adecuada de la piel puede reducir en un 90 % el conteo bacteriano.

La mayor parte de la flora indígena de la piel se encuentra en el estrato córneo y dentro de los folículos pilosos. Los folículos pilosos y las glándulas sebáceas sirven como reservorio de un pequeño número de microorganismos, con los que remplazan los eliminados de la piel por el lavado.

La flora microbiana del pelo es similar a la de la piel.

Las bacterias que predominan son los *Staphylococcus epidermidis*, especies de *Micrococcus*, difteroides aerobios y anaerobios. Los *Staphylococcus aureus*, y los estreptococos alfa y no hemolíticos, pueden encontrarse como colonización transitoria. Algunas micobacterias acidorresistentes no patógenas colonizan, ocasionalmente, áreas ricas en secreciones sebáceas como el conducto auditivo, los genitales externos y las axilas.

En la piel habitan, además, levaduras del tipo de la *Candida albicans*, *Torulopsis glabrata*, *Pityrosporum orbiculare* y *Pityrosporum ovale*.

CONJUNTIVA

La flora microbiana de la conjuntiva normal se deriva de la flora indígena de la piel.

Los microorganismos hallados con mayor frecuencia en esta localización son los *Staphylococcus epidermidis*, difteroides y hongos saprofitos del aire.

TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR

Excepto las fosas nasales y la nasofaringe, en el tracto respiratorio superior existen mecanismos como el movimiento de los cilios, la lisozima del moco y la actividad fagocítica de los macrófagos alveolares, los cuales constituyen una defensa a la instalación de bacterias patógenas, que inhaladas por el aire o por otros mecanismos, lleguen hasta esta zona.

La nasofaringe del neonato es estéril al nacimiento, pero en 2 a 3 días se coloniza con la flora indígena de la madre y del personal del hospital. Bacterias consideradas patógenas como el *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Staphylococcus aureus* y *Bordetella pertussis*, pueden encontrarse presentes en alguna proporción en la población bacteriana.

La flora bacteriana típica incluye una mezcla de *Streptococcus viridans*, estreptococos no hemolíticos, *Staphylococcus epidermidis* y especies no patógenas de *Neisseria*.

De la erradicación de esta flora por el uso de antibióticos, puede resultar una colonización por microorganismos gramnegativos como la *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus* y especies de *Pseudomonas*.

CAVIDAD ORAL

En esta localización existen las condiciones ambientales favorables (grado de humedad, nutrientes, pH y temperatura) para permitir la colonización por los microorganismos, pero la deglución de los microorganismos con la saliva, que luego son destruidos por el pH ácido del estómago y la descamación de las células epiteliales de la boca, constituyen elementos importantes en la remoción de microorganismos de esta cavidad.

La boca del neonato contiene los microorganismos que adquiere en su paso por el canal del parto como lactobacilos, corinebacterias, estafilococos, micrococos, bacilos entéricos gramnegativos, levaduras y estreptococos aerobios, microfilicos y anaerobios. Esta flora desaparece en 2 a 5 días y es remplazada por la flora de la madre y del personal del hospital.

Los *Streptococcus viridans* y otros estreptococos constituyen del 30 al 60 % de la flora indígena de la boca. Estas especies se adhieren específicamente a la mucosa oral y al esmalte de los dientes. El *Streptococcus mitior* es la especie asociada, sobre todo, a las células de la cavidad oral; el *Streptococcus salivarius* está asociado con la lengua; y el *Streptococcus sanguis* y el *Streptococcus mutans* al esmalte de los dientes y placas bacterianas. La formación de placas resulta de un conteo bacteriano tan alto como 10^{11} microorganismos/g.

La mayoría de la flora anaerobia aparece después del brote de los dientes y habitan las placas bacterianas y las grietas gingivales (periodontitis), donde el nivel de oxígeno es menor que 0,5 %. Están presentes *Bacteroides melaninogenicus*, treponemas no patógenos, *Veillonella*, *Clostridium*, *Fusobacterium* y especies de *Peptostreptococcus*. El *Actinomyces israelii* es un patógeno potencial, que habita normalmente en las encías.

La flora oral indígena varía de forma considerable en cada individuo, a expensas de factores que pueden ser tan diversos como el tipo de nutrición y los hábitos de higiene personal.

TRACTO UROGENITAL

Los riñones, uréteres, vejiga, uretra superior y los testículos y ovarios, están habitualmente libres de microorganismos; pero la uretra inferior, el meato, la vagina y la vulva, en el adulto, están colonizados por una gran cantidad de microorganismos.

El tracto urogenital del neonato es estéril, pero en las primeras 24 horas posteriores al nacimiento resulta colonizado por una flora compuesta por difteroides, estafilococos y estreptococos no hemolíticos.

La vagina del neonato es colonizada por lactobacilos. Las condiciones alcalinas de la vagina antes de la pubertad, facilitan el crecimiento de una variada flora microbiana; y en la pubertad, los estrógenos condicionan la presencia de glucógeno, se produce un medio ácido y promueven el crecimiento de la flora típica de la vagina de la mujer adulta, que de manera notable está colonizada por lactobacilos anaerobios, los cuales probablemente impiden la colonización por otros microorganismos. También se encuentran difteroides, *Staphylococcus epidermidis*, estreptococos aerobios, microaerofílicos y anaerobios, y especies de *Ureaplasma*. Es raro que la flora vaginal de la mujer sana contenga bacterias entéricas, excepto en las proximidades del ano.

Hongos de los géneros *Candida*, *Torulopsis* y *Geotrichum*, y protozoarios como la *Trichomonas vaginalis*, pueden hallarse en pequeña cantidad, sin causar daño; pero el aumento de la presencia de estos microorganismos puede originar procesos patológicos.

Aproximadamente el 15-20 % de las mujeres embarazadas, presentan colonización de la vagina por *Streptococcus agalactiae*, que es un patógeno potencial para el recién nacido.

Los *Staphylococcus epidermidis*, estreptococos no hemolíticos y difteroides, son los microorganismos que predominan en la porción distal de la uretra femenina y masculina. El *Mycobacterium smegmatis* se encuentra, frecuentemente, en las secreciones uretrales de las mujeres y de los hombres no circuncisos.

TRACTO GASTROINTESTINAL

Esta es la región más colonizada del organismo. El número y tipo de microorganismos colonizantes, varía de acuerdo con las diferentes localizaciones y las características del medio.

El tracto gastrointestinal del neonato generalmente está estéril, con excepción de algunas pocas bacterias que pueda haber adquirido durante el parto. La colonización ocurre en las primeras 24 horas posteriores al nacimiento, y en el recién nacido alimentado sólo con leche materna, esta colonización es a expensas de *Lactobacillus bifidus*, y en pequeña proporción, otras bacterias como enterococos y estafilococos. Cuando se comienza a introducir otra alimentación, van a predominar en las evacuaciones *Lactobacillus acidophilus*, bacilos gramnegativos, enterococos y bacilos anaerobios como los *Clostridium*.

En el adulto sano no encontramos, por lo general, flora indígena en el estómago ni en el íleon, porque el ácido clorhídrico y las enzimas del estómago habitualmente matan a los microorganismos que se ingieren. Aun así, si son colonizados, el número de microorganismos es menor que 10^3 /mL, y a menudo son especies de *Lactobacillus* y *Candida albicans*. También se plantea que la mayoría de los adultos pueden estar colonizados por *Helicobacter pylori*, microorganismo relacionado con afecciones pépticas. El duodeno y el yeyuno están colonizados por *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Candida albicans*, de los que puede haber un crecimiento en el íleon en situaciones anormales. La peristalsis en el íleon ayuda a mantener condiciones de esterilidad en la porción superior, pero el íleon terminal con frecuencia está considerablemente colonizado con bacterias.

El colon es el mayor reservorio de microorganismos del cuerpo humano, con conteos de 10^{12} bacterias/g de materia fecal recién emitida. Las especies anaerobias obligadas *Bacteroides* y *Bifidobacterium*, representan más del 90 % de la flora bacteriana del colon. La *Escherichia coli* es el anaerobio facultativo más numeroso.

Varios factores, entre los que se encuentra el estrés y el uso de antibióticos, pueden alterar la flora indígena del colon y ocasionar una pérdida del equilibrio entre los microorganismos de la flora intestinal, que condiciona el crecimiento desmedido de cepas potencialmente patógenas.

RESUMEN

Una gran cantidad de microorganismos se hallan colonizando la piel y mucosas del hombre sano. Estos microorganismos se establecen en determinadas localizaciones del cuerpo humano, después del nacimiento, en dependencia de factores fisiológicos como son: la temperatura, la humedad, los nutrientes y la presencia de sustancias inhibitorias de su

crecimiento. Esta flora microbiana indígena varía según la localización, edad, tipo de alimentación y otros factores.

Estos microorganismos se encuentran en un equilibrio, que cuando se trastorna o salen de su ubicación habitual, y son introducidos en la circulación sanguínea o los tejidos, pueden comportarse como patógenos, denominándose entonces “oportunistas”.

Se hizo una descripción de los microorganismos que con mayor frecuencia se encuentran formando parte de la flora indígena, en las diferentes localizaciones del cuerpo humano.

BIBLIOGRAFÍA

- Appelberg R, Silva NT. Relação Parasita-Hospedeiro. *En*: Canas Ferreira WF, Sousa JCF. Microbiologia. Vol I. Lisboa: Lidel-Edições Técnicas, 1998:141-205.
- Brooks GF et al. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 15ta ed. en español. Cap. 11. México D.F.: Ed. El Manual Moderno, 1996:199-204.
- Murray PR. Pocket Guide to Clinical Microbiology. 2nd ed. USA: American Society for Microbiology, 1998.
- Wagner GE. Indigenous Flora and Natural Barriers to Infection. *En*: Kingsbury DT, Wagner GE. The National Medical Series for Independent Study. Microbiology. 2nd ed. USA: Williams & Wilkins, 1990:71-80.

A graphic featuring a light-colored, textured oval shape. Inside the oval, the word "Capítulo" is written in a purple, serif font at the top, and the number "14" is written in a larger, bold, purple, serif font below it. A thin purple horizontal line extends from the right side of the oval across the page.

Propiedades de los microorganismos para producir enfermedad

Raquel de los A. Junco Díaz

INTRODUCCIÓN

La enfermedad infecciosa es el resultado de una relación no exitosa entre el parásito y el hospedero. Estas relaciones son fundamentales en cualquier discusión de microbiología clínica; en realidad el campo de la microbiología clínica está establecido sobre el esfuerzo para esclarecer esas relaciones. Se han usado diferentes términos para describir tales relaciones y su eventual desenlace. Si la relación es beneficiosa para ambos miembros se denomina *simbiosis*; si es de beneficio para un miembro y causa un efecto pequeño sobre el otro, se llama *comensalismo*; y si un miembro se beneficia a expensas del otro se considera *parasitismo*.

Los factores que afectan el desenlace final de la relación hospedero-parásito determinan la salud o la enfermedad. Estas relaciones son dinámicas y el reconocimiento de un único factor responsable para el carácter final de la relación es difícil. Por esta razón es mucho más apropiado considerar el establecimiento de la relación como un mecanismo con diferentes estadios. Esto sugiere un cambio constante, tanto en el parásito como en el hospedero. El término parásito, por lo tanto, debe ser visto al describir una relación en la cual un miembro tiene la potencialidad de dañar los tejidos o células del otro.

Un patógeno es definido como un organismo que tiene la potencialidad de causar enfermedad. Esta habilidad depende de diversos factores, que incluyen dosis infecciosa del parásito, puerta de entrada en el hospedero y, lo más importante, el hospedero. Los microorganismos que tienen la probabilidad mayor de causar enfermedad cuando se introducen en el hospedero en cantidades pequeñas son considerados *virulentos*. Aquellos microorganismos que solamente inducen enfermedad cuando los mecanismos de defensa del hospedero están comprometidos o debilitados se consideran *oportunistas*.

El patógeno más exitoso no es aquel que puede ocasionar un daño extenso o hasta la muerte en el hospedero, sino el que puede establecer un estado de patogenicidad balanceada. Los parásitos que destruyen todas las células infectadas, con el tiempo conducen a su propia extinción. Los parásitos exitosos utilizan nutrientes suministrados por el hospedero sin causar más daño que el necesario para mantener su fisiología, metabolismo y crecimiento.

Por diversas razones muchos parásitos no han alcanzado este estado de patogenicidad balanceada. Una razón atañe al hospedero natural del parásito. Algunas de las infecciones más severas en términos de morbilidad (número de casos) o mortalidad (número de muertes) son aquellas adquiridas de animales. Como ejemplos tenemos la fiebre de Lassa, causada por un arenavirus encontrado en roedores, y la peste bubónica, ocasionada por *Yersinia pestis*, hallada en roedores y transmitida por pulgas. Entre otras muchas están la rabia, la leptospirosis, la psitacosis, el ántrax y la brucelosis. Los agentes etiológicos de esas enfermedades no se han desarrollado hacia formas menos patógenas en los humanos porque estos sean ajenos para su sobrevivencia, sino porque los humanos simplemente sirven como hospederos accidentales.

ESTABLECIMIENTO DE LA ENFERMEDAD INFECCIOSA

En el estudio de la patogénesis y el establecimiento de la enfermedad infecciosa está implícito el concepto de que son temas comunes y estrategias que se han desarrollado en todas las relaciones hospedero-parásito encontradas, ya sea el parásito un virus, una bacteria, un hongo, un protozoo o un helminto. Por ejemplo, en todas las interacciones hospedero-parásito, el organismo tiene, primero, que hallar un hospedero, penetrar y establecerse por sí mismo, ya sea localmente o en un sitio distante de la puerta de entrada. Allí procede a multiplicarse. Los organismos que causan enfermedad ejercen algún daño al hospedero, aunque la extensión de este daño varía considerablemente entre los organismos. Todos estos pasos, sin embargo, requieren la ruptura de las defensas del hospedero o, simplemente, una serie de obstáculos que el organismo tiene que salvar para proceder al siguiente paso.

El sitio específico por el cual un organismo entra al cuerpo se llama *puerta de entrada*. Numerosas puertas de entrada incluyen la piel, el tracto respiratorio, el tracto gastrointestinal, el tracto genitourinario y la conjuntiva. El establecimiento en cada uno de estos sitios está limitado por los numerosos mecanismos de defensa no específicos que intervienen en la respuesta del hospedero a ese nivel. A pesar de ello, algunos organismos son capaces de vencer la puerta de entrada y adherirse a la superficie de la célula eucariótica. La adhesión puede ser el primer paso esencial en la patogénesis de las enfermedades infecciosas.

Muchos organismos nunca se diseminan más allá de la capa epitelial de la célula en la cual ellos se adhieren. Varios virus respiratorios, tales como los rinovirus, el virus influenza y parainfluenza, están, generalmente, limitados a las superficies epiteliales. La diseminación de esos virus a los tejidos subepiteliales está inhibida por la respuesta inflamatoria y otros factores de resistencia no específicos, tales como el interferón y quizá por características propias del crecimiento del virus. Los rinovirus se replican bien a 33 °C, la temperatura del epitelio nasal, pero lo hacen pobremente a 37 °C, que es la temperatura interna del cuerpo.

Muchas infecciones bacterianas están limitadas a las superficies epiteliales, debido, en gran medida, a los mecanismos de defensa del hospedero que previenen su diseminación a los tejidos subepiteliales. Esta es la situación en la mayoría de las bacterias gramnegativas. Aunque organismos tales como *Shigella* no penetran más allá del epitelio intestinal, son capaces de causar diarreas y disentería por su habilidad de invadir las células epiteliales y de esta manera diseminarse a través del epitelio intestinal.

La mayoría de los parásitos facultativos y los obligados intracelulares, incluyendo virus, protozoos y bacterias, penetran a la célula eucariótica por endocitosis, un proceso comparable con la fagocitosis por macrófagos y neutrófilos. Las células epiteliales, sin embargo, son fagocitos no profesionales y no poseen el equipo de actividad antimicrobiana observada en los neutrófilos y macrófagos. No obstante, poseen lisosomas y los organismos deben ser capaces de evitar sus efectos. *Shigella flexneri*, por ejemplo, rompe la membrana celular de la vacuola endocítica y escapa hacia el citoplasma. Varias enzimas de otros organismos pueden facilitarle escapar de la vacuola y extenderse a las células adyacentes. Las bases genéticas de la invasión por los patógenos bacterianos, han sido más ampliamente estudiadas en la familia *Enterobacteriaceae*.

Los organismos que son capaces de atravesar la capa de la superficie epitelial están expuestos a los macrófagos residentes, al sistema linfático que los conduce a los nódulos

linfáticos y a lo más importante, la respuesta inflamatoria. Esta respuesta, estrechamente ligada con las citocinas, ocurre a través del cuerpo, dondequiera que suceda la invasión. Los organismos que entran en el sistema linfático son entregados a los nódulos linfáticos, donde comienza a desempeñar su papel la respuesta inmune específica, aunque las reacciones del anticuerpo y mediadas por células, pueden ocurrir en los tejidos de la submucosa. La mayoría de las bacterias, hongos, protozoos y virus son depurados e inactivados en los nódulos linfáticos, aunque algunos no lo son, ya que son capaces de destruir a los fagocitos, multiplicarse en ellos o exhibir otros mecanismos de patogenicidad. Eventualmente, ciertos organismos alcanzan el sistema sanguíneo procedentes del sistema linfático y son distribuidos de forma sistemática a través del cuerpo. Aunque la sangre es el vehículo de diseminación más efectivo, esta puede ocurrir por otras vías. Los virus, tales como el herpes simple y la rabia, por ejemplo, viajan por los nervios. Sin embargo, los macrófagos están presentes en casi todos los compartimientos del cuerpo y esos macrófagos reticuloendoteliales continúan monitoreando la sangre y en combinación con otros componentes del sistema inmune, destruyen a la mayoría de los organismos que circulan en el plasma.

Los microorganismos pueden ocasionar un daño variable en el hospedero, que va desde el no daño hasta el daño severo. Cuando los microorganismos se multiplican en los tejidos del hospedero y causan una respuesta inmune detectable, pero sin signos o síntomas evidentes, la infección es subclínica o inaparente. La expresión clínica de la infección es conocida como *enfermedad e* indica la existencia de un daño a las células y los tejidos, que se manifiesta a través de los signos y síntomas clínicos. El daño ocasionado por los microorganismos puede ser *directo*, debido a la elaboración de toxinas o enzimas, o por otras acciones patológicas directas; o puede ser *indirecto*, debido a reacciones inmunopatológicas.

La mayoría de los agentes infecciosos son, eventualmente, conducidos bajo control y eliminados, y el daño de los tejidos reparado y reconstruido. Los factores inmunológicos responsables para controlar la infección deben ser, algunas veces, reforzados con la administración de agentes antimicrobianos.

Hay algunas infecciones en las cuales el microorganismo no es eliminado y persiste en el cuerpo por meses, años o inclusive toda la vida. Los organismos que causan esas infecciones persistentes son los virus y en muchos casos son los dominantes en algunos de los mecanismos de patogenicidad discutidos más adelante.

Como ejemplos de virus que pueden causar infecciones persistentes se encuentran el herpes simple, hepatitis B y el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Las infecciones virales persistentes pueden ser subdivididas en varias categorías, dependiendo de si el virus infeccioso continúa su replicación a través de su existencia completa en el cuerpo o solamente durante ciertos períodos, cuando el mismo es activado. El herpes simple produce un tipo de infección persistente conocida como infección latente o latencia. Posterior a la infección primaria de las células epiteliales, este organismo establece una infección latente en varias neuronas sensitivas. Durante este tiempo, el genoma del virus está presente, pero el virus infeccioso no se replica y no se observan signos de infección. Si hay cambios en la fisiología del hospedero, sin embargo, se trastorna este balance hospedero-parásito y el herpesvirus latente entrará en su ciclo lítico normal de replicación viral. Como resultado se producirán herpesvirus y aparecerán los signos característicos de la infección por herpes. El virus puede reestablecer otra infección latente posterior al estado lítico.

Otro tipo de infección persistente es una infección lenta producida por un agente viral no convencional como es el CJ (Creuzfeldt-Jacob). Se caracteriza por un período de incubación prolongada durante la cual el virus no es realmente demostrable, seguido por la enfermedad progresiva.

Los mecanismos por los cuales los virus producen infección persistente no están completamente comprendidos, pero casi siempre involucran inmunomodulación, que es la anulación de la defensa inmune no específica y específica por mecanismos tales como: la variación antigénica, la inmunosupresión e infección de sitios protegidos de las defensas humorales y celulares; así como la reducción en la expresión de antígenos. Las infecciones persistentes son, actualmente, procesos muy complejos que sólo recién han comenzado a ser dilucidados.

MECANISMOS DE PATOGENICIDAD

Aunque los humanos han desarrollado numerosos sistemas efectivos para protegerse de los microorganismos a los que están continuamente expuestos, estos últimos han desarrollado una variedad de mecanismos para engañar a estas defensas protectoras. Es necesario enfatizar que es a menudo el hospedero y no el microorganismo el que determina el desenlace eventual de la relación hospedero-parásito. Esos mecanismos serán discutidos en términos del parásito de manera que se pueda reconocer la capacidad potencial de esos organismos.

Los mecanismos de patogenicidad son mejor comprendidos cuando se examinan en el contexto de las defensas del hospedero que ellos explotan. Como tal, son divididos en los siguientes grupos: aquellos que permiten la adhesión y multiplicación; aquellos que permiten la adquisición de nutrientes del hospedero; aquellos que inhiben el proceso fagocítico; aquellos que permiten la evasión de la respuesta inmune; aquellos que ocasionan daño directo sobre el hospedero y aquellos que causan daño indirecto por la vía de los procesos inmunopatológicos.

Los microorganismos presentan otros mecanismos de virulencia que no se encuentran dentro de estas categorías. Por ejemplo, el dimorfismo en los hongos, o la habilidad de producir diferentes formas morfológicas a 25 y a 37 °C, se sospecha que sea un mecanismo de patogenicidad aunque su papel preciso no esté definido. La tolerancia de temperatura es otro factor de virulencia de los hongos que no es fácil de categorizar. Diversos estudios han mostrado que el crecimiento eficiente a 37 °C se requiere para la virulencia de los hongos patógenos; y, por otra parte, diferencias relativamente pequeñas en la tolerancia de temperatura de un organismo pueden inhibir su potencial patogénico o alterar su expresión clínica.

Es importante enfatizar dos puntos adicionales. Primero, muchos organismos deben su virulencia a una interacción compleja de diferentes factores patogénicos y no a un solo mecanismo. Segundo, la mayoría de los mecanismos que han sido propuestos, están basados en la obtención de datos *in vitro* y sólo en unos pocos casos es conocido que ellos operen *in vivo*. No se puede asumir automáticamente una correlación directa entre los datos *in vitro* y la situación *in vivo*, porque la reproducción de las condiciones ambientales que ocurren en el hospedero durante la infección es en extremo difícil (si no imposible). Las condiciones *in vivo* son dinámicas y no han sido totalmente definidas.

MECANISMOS QUE PERMITEN LA ADHESIÓN Y MULTIPLICACIÓN

La adherencia a las células epiteliales del hospedero puede ser el primer paso esencial en la patogénesis de muchas enfermedades infecciosas. La adherencia permite a los organismos colonizar y multiplicarse en una proporción más rápida que su remoción, ofrece acceso a las células y tejidos del cuerpo, y provee un foco para la elaboración de enzimas y toxinas. Además, la adherencia puede ser importante nutricionalmente, ya que los materiales nutrientes tienden a concentrarse en la interfase sólido-líquido del cuerpo.

La adherencia microbiana depende de la participación de las adhesinas y los receptores. Las *adhesinas* son las estructuras de la superficie microbiana que permiten la adhesión y están compuestas, frecuentemente, de proteína en la forma de fimbria o fibrilla, de las cuales ambas son apéndices filamentosos finos que rodean al organismo. Los *receptores*, el resto complementario en la superficie celular del hospedero, usualmente son moléculas que contienen carbohidrato (por ejemplo, glicoproteínas o glicolípidos). La adherencia ha sido estudiada más extensivamente en las bacterias y los virus, aunque durante los últimos años se ha realizado un progreso considerable en la definición de la interacción protozario-célula. La unión de las adhesinas y los receptores juntos, en un estrecho y específico modo cerradura-llave, es similar al enlace de una enzima con su sustrato o un anticuerpo con su antígeno.

Los componentes estructurales específicos de las adhesinas y los receptores, y la bioquímica involucrada en esta interacción, han sido reportados en diferentes organismos. La adhesina de *S. pyogenes*, un agente causal de faringitis, está presente en el ácido lipoteicoico en la fimbria que rodea al organismo. El ácido lipoteicoico, el cual está unido a ciertas proteínas, tales como la proteína M en la superficie celular bacteriana, media la adhesión del

organismo a la fibronectina en la superficie celular epitelial. La fibronectina es una gran glicoproteína presente en grandes cantidades en la superficie de varias mucosas, la que ha sido identificada también como el receptor para otros organismos, incluyendo *Staphylococcus aureus*, *Treponema pallidum* y *Trypanosoma cruzi*.

Ejemplos de adhesinas de otros organismos incluyen el pili de *N. gonorrhoeae* y el pili tipo I o fimbria de muchas *Enterobacteriaceae*. Se debe destacar que algunos organismos, tales como *E. coli*, pueden expresar diversos tipos de adhesinas, las cuales probablemente permiten la adherencia a superficies diferentes bajo diversas condiciones.

MECANISMOS QUE PERMITEN LA ADQUISICIÓN DE NUTRIENTES DEL HOSPEDERO

Otros factores que poseen los microorganismos e influyen en el eventual desenlace de la relación hospedero-parásito, incluyen un mecanismo único para adquirir nutrientes. Las bacterias, por ejemplo, requieren hierro para su metabolismo y crecimiento, y para la producción de una variedad de toxinas. La mayor parte del hierro en los humanos está secuestrado en las células y de este modo no está disponible a las bacterias. Además, las pequeñas cantidades de hierro que están localizadas extracelularmente, están limitadas a proteínas ligadas al hierro como la transferrina y la lactoferrina. La transferrina sirve como el transportador del hierro en el plasma y la lactoferrina en varias secreciones corporales que incluyen las lágrimas, saliva, leche, jugo pancreático y mucus bronquial.

Uno de los mecanismos que las bacterias poseen para extraer hierro del hospedero es la producción de sideróforos, los cuales, en ausencia del mineral, son capaces de extraerlo unido a la transferrina o lactoferrina y entregarlo a las células bacterianas a través de receptores especiales. La competencia por el hierro es un proceso activo en la relación hospedero-parásito y durante las infecciones humanas hay una reducción de los niveles de hierro en el suero sanguíneo por retención del mismo por los organismos invasores.

MECANISMOS QUE INHIBEN EL PROCESO FAGOCÍTICO

Los microorganismos han desarrollado un mecanismo para la inhibición de cada paso del proceso fagocítico normal.

Inhibición de la quimiotaxis

Diversas toxinas bacterianas son capaces de inhibir la migración de los leucocitos hacia el sitio de infección. Ejemplos incluyen la toxina del cólera de *Vibrio cholerae*, la enterotoxina de *E. coli*, la α -toxina de *Staphylococcus aureus*, la estreptolisina O de *S. pyogenes* y la θ -toxina de *Clostridium perfringens*.

Algunos componentes de la superficie microbiana, tales como el ácido hialurónico de la cápsula de *S. pyogenes* y el tipo III del polisacárido de los neumococos y quizá otros, pueden también inhibir la locomoción de los leucocitos.

Inhibición de la adhesión de los fagocitos

La cápsula bacteriana es la sustancia antifagocítica más importante y ubicua. La encapsulación de una gran variedad de organismos que incluyen *S. pneumoniae*, *E. coli*, *H. influenzae*, *S. agalactiae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* y *Cryptococcus neoformans*, ha sido asociada con la virulencia.

Los mecanismos por los cuales la encapsulación confiere resistencia a la fagocitosis pueden incluir: disminución de la unión de las opsoninas del suero, no accesibilidad de ligandos (IgG y C3b) que se requieren para la unión del fagocito y disminución hidrofóbica de la célula bacteriana. Debe destacarse que la presencia de anticuerpo anticapsular vence al efecto antifagocítico de las cápsulas.

Otros componentes estructurales también son antifagocíticos. Algunos ejemplos inclu-

yen la proteína A de *Staphylococcus aureus*, la proteína M de *S. pyogenes*, el antígeno Vi de *Salmonella typhi* y las proteínas de la membrana externa de *N. gonorrhoeae*.

Inhibición de la fusión del lisosoma

La exposición a los gránulos hidrolíticos lisosomales puede ser evitada por inhibición de la fusión del lisosoma con el fagosoma, ofreciendo una ventaja a los microorganismos englobados. *Legionella pneumophila*, *Chlamydia psittaci*, *Toxoplasma gondii* y *M. tuberculosis* son capaces de inhibir la fusión.

El mecanismo que permite la inhibición de la fusión fagosoma-lisosoma no ha sido demostrado convincentemente para la mayoría de los organismos. Estudios con macrófagos infectados con *M. tuberculosis*, sin embargo, sugieren que los sulfátidos (glicolípidos) presentes en la pared celular de este organismo pueden prevenir o retardar la fusión. La inhibición de la fusión de los macrófagos infectados con *Toxoplasma gondii* es posible que se deba a la secreción de una sustancia que altera la membrana del fagosoma, por lo cual la vía de fusión puede no ocurrir. En ambos casos, la inhibición de la fusión es un proceso activo que requiere organismos vivos. La opsonización de *M. tuberculosis* y *T. gondii* con anticuerpos induce la formación de fagolisosomas. Esto facilita la muerte de *T. gondii*; no obstante, *M. tuberculosis* permanece viable. La activación de los macrófagos por linfocinas le facilita a estas células fagocíticas destruir ambos organismos, demostrando una vez más el delicado balance entre hospedero y parásito en los procesos infecciosos.

Legionella pneumophila no solamente inhibe la fusión fagolisosoma, sino que, además, es ingerido por un proceso no usual nombrado *fagocitosis con enrollamiento*. En este proceso, la adherencia de *Legionella* al macrófago induce la formación de un pseudópodo largo, delgado, que luego forma una espiral alrededor de las bacterias, constituyendo una vesícula. La vesícula permanece intacta, se inhibe la fusión de fagolisosomas, y las bacterias se multiplican dentro de la vesícula. El mecanismo que fortalece la fagocitosis no se conoce, pero cuando el organismo es cubierto con anticuerpo específico, es ingerido mediante la fagocitosis convencional. Interesantemente, después de la formación del fagosoma, las mitocondrias y los ribosomas rodean el fagosoma conduciendo a la formación de un fagosoma-ribosoma limitado. Ya que los fagosomas de *T. gondii* y *Chlamydia psittaci* comparten diversos rasgos con *L. pneumophila*, se ha planteado que esos tres organismos comparten una vía común por la célula del hospedero, y la habilidad de inhibir la fusión fagolisosoma puede ser unido por un mecanismo común. Debe notarse que *L. pneumophila* viva, no muerta, induce la formación de un fagosoma-ribosoma limitado e inhibe la fusión fagolisosoma. La activación de macrófagos o el pretratamiento de *L. pneumophila* con anticuerpo específico, favorece un pequeño grado de fusión.

El virus influenza inhibe la fusión de los lisosomas con fagosomas que contienen estafilococos e inhibe la descarga de mieloperoxidasa. Esto tal vez explique la patogénesis de las infecciones secundarias en pacientes con infecciones por virus influenza.

Resistencia a ser destruidos en el fagolisosoma

Los microorganismos facultativos o intracelulares obligados deben ser capaces de resistir la muerte e incrementar en número en el fagocito. Pueden hacerlo mediante la inhibición de la fusión del lisosoma o por el desarrollo de la capacidad de resistir las acciones antimicrobianas dependientes o independientes al oxígeno de las enzimas fagolisosómicas. La resistencia a las actividades microbicidas independientes de oxígeno pueden ser mediadas por las propiedades superficiales del organismo. Por ejemplo, estudios *in vitro* sugieren que el LPS de *Salmonella typhimurium* impide estéricamente la ligadura de los extractos granulares.

Otros mecanismos pueden, además, hacer al organismo resistente a la muerte en el fagolisosoma. *Toxoplasma gondii* parece no estimular el esfuerzo respiratorio y como resultado los metabolitos que reactivan el oxígeno no se generan. La habilidad de *Coxiella burnetii*, el parásito intracelular obligado responsable de la fiebre Q, reside en el fagolisosoma que parece estar relacionado con sus actividades bioquímicas acidofílicas y enzimáticas. El

metabolismo activo de *C. burnetii* parece ocurrir a pH bajo, específicamente de 4,5 a 4,8, que es el pH del fagolisosoma. La producción de dismutasa superóxida y catalasa puede, asimismo, ayudar a proteger al organismo de los productos tóxicos oxigenados del hospedero. Se ha sugerido que la producción única de dismutasa superóxida y altos niveles de catalasa pueden proteger a *Nocardia asteroides* de los efectos del O_2^- y H_2O_2 .

Un mecanismo único para evitar el esfuerzo respiratorio es el uso de ciertos receptores del complemento en la superficie del fagocito. Usualmente los receptores de CR1 facilitan que se lleve a cabo la ingestión y destrucción de los organismos cubiertos con el complemento. Estudios recientes han mostrado que algunos organismos, sin embargo, son capaces de usar los receptores de complemento en la célula fagocítica tanto para su ventaja como para su desventaja; y, además activar la vía alterna del complemento y cubrirse por sí mismos con fragmentos de C3, aunque no ocurre la lisis subsecuente. Los organismos cubiertos entran, entonces, al macrófago por la vía de los receptores de CR1.

Este parasitismo del sistema ligando-receptor es de beneficio definido al microorganismo, ya que la ingestión de los mismos, cubiertos con complemento, no provoca un esfuerzo respiratorio sobre la fagocitosis. De este modo, la entrada por los receptores del complemento puede permitir al parásito intracelular evitar la exposición de derivados tóxicos al oxígeno y otros factores bactericidas. Los organismos que poseen esta habilidad incluyen *L. pneumophila*, *M. tuberculosis* y *Leishmania*.

Destrucción del fagocito

Diversos microorganismos destruyen las células fagocíticas. La mayoría de estos producen toxinas que despolarizan la membrana celular del fagocito, con la subsiguiente degranulación masiva y muerte celular.

Las estreptolisinas O y S son responsables de la actividad citolítica de *S. pyogenes*. Esas enzimas difieren en su mecanismo de acción. La estreptolisina O inicialmente se une al colesterol en la membrana fagocítica y conduce a la formación de canales que penetran la membrana creando grandes defectos, con la lisis posterior. La estreptolisina S parece ejercer su efecto citolítico por alteración de la permeabilidad de la membrana. La leucocidina estafilocócica, la toxina del ántrax y la exotoxina A de *Pseudomonas aeruginosa*, además, parecen ser tóxicas para los fagocitos.

Escape desde el fagolisosoma al citoplasma

Algunos organismos son capaces de escapar a la destrucción del fagolisosoma por la producción de un factor hemolítico que funciona en un ambiente ácido. Otros son capaces de degradar la membrana fagolisosómica por la producción de una hemolisina.

MECANISMOS QUE PERMITEN LA EVASIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE

Algunos organismos evitan encontrarse con las defensas del hospedero, residiendo en sitios privilegiados inmunológicamente, es decir, sitios protegidos de las defensas humorales y celulares. Ejemplos de tales sitios incluye: riñones, ciertas partes del cerebro y la capa epitelial de las mucosas respiratoria, urogenital y el tracto y glándulas mamarias.

Existen organismos capaces de liberar sus antígenos superficiales en forma soluble durante las infecciones sistémicas. Como ejemplos tenemos: *Candida albicans*, *S. pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *P. aeruginosa*, *Trypanosoma cruzi* y *Toxoplasma gondii*.

La evasión de la respuesta inmune puede ocurrir por la modificación de sus antígenos superficiales. Esto es posible durante una infección única o por un período con diferentes infecciones. Tal vez el mejor ejemplo de variación antigénica son los tripanosomas, parásitos responsables de la tripanosomiasis africana.

Algunas toxinas microbianas (enterotoxinas estafilocócicas, toxina-1 del síndrome del choque tóxico, exotoxinas pirogénicas A, B y C, y la proteína M de *S. pyogenes*) son capaces

de sobreestimar el sistema inmune activando grandes números de células T para proliferar. Esta estimulación incrementada ha dado lugar a la designación de estas sustancias como *superantígenos*.

Las infecciones virales persistentes han estado asociadas con la reducción en la expresión de antígenos. Esta alteración de los antígenos protege a los virus de las fuerzas inmunes.

Durante las infecciones con bacterias, virus, hongos, protozoos y helmintos se puede desarrollar en el hospedero un estado de inmunosupresión, el cual es posible que se manifieste como una respuesta deprimida a organismos no relacionados con el organismo infectante o puede ser específico y directo sólo contra los antígenos del organismo invasor. Ambos tipos de inmunosupresión han sido observados en algunas infecciones. La inmunosupresión general y específica puede involucrar tanto la respuesta humoral como la mediada por células.

Algunos organismos producen enzimas (proteasas) que separan una o ambas subclases de la IgA humana, que es la mediadora principal de la inmunidad humoral en las superficies mucosas. Estas proteasas IgA son biológicamente significativas y pueden desempeñar un papel en algunas enfermedades asociadas a las membranas mucosas. Ejemplos de microorganismos tenemos: *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Neisseria meningitidis*, *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *Streptococcus sanguis* y otros. De particular interés es el hecho de que los organismos que producen proteasas IgA son realmente asociados con enfermedades infecciosas que tienen lugar o se originan en las superficies mucosas, como: meningitis bacteriana, infecciones vaginales y del tracto urinario, y enfermedad periodontal.

La resistencia al suero sanguíneo es la habilidad de un microorganismo de prevenir la lisis por el complemento. Esta habilidad puede ser conferida por una variedad de mecanismos, los cuales promueven la supervivencia de los microorganismos. Ciertas cepas de *Salmonella* y *E. coli* poseen antígenos O en su lipopolisacárido (LPS), el que estéricamente impide el acceso de C5b a 9 (complejo C5b-9), el complejo lítico del complemento.

Algunos microorganismos promueven la formación de anticuerpos inefectivos bloqueadores que son capaces de unirse a receptores específicos en la superficie del microorganismo el cual indujo su formación y bloquear estéricamente el acceso al antígeno que se une al anticuerpo antibacteriano efectivo. Los anticuerpos inefectivos bloqueadores pueden formarse como respuesta a ciertas cepas de *N. gonorrhoeae*. Los gonococos que poseen receptores para los anticuerpos bloqueadores son resistentes a ser destruidos por los anticuerpos y el complemento presente en el suero humano normal, así como y son capaces de invadir el torrente sanguíneo para producir una infección diseminada.

MECANISMOS QUE OCASIONAN DAÑO DIRECTO SOBRE EL HOSPEDERO (A TRAVÉS DE TOXINAS Y ENZIMAS)

Las toxinas microbianas pueden ser clasificadas como exotoxinas y endotoxinas (Cuadro 14.1). Las *exotoxinas* se producen durante el metabolismo de las bacterias y son secretadas al ambiente que las rodea; mientras que las *endotoxinas* forman parte de la pared celular y son liberadas en grandes cantidades sólo cuando la célula se lisa.

Exotoxinas

Las exotoxinas se producen primariamente por las bacterias grampositivas y en ocasiones por las gramnegativas. Son proteínas inmunogénicas que a menudo se comportan como enzimas. Sus efectos pueden manifestarse tanto local como sistémicamente, dependiendo de la toxina.

Las exotoxinas pueden ser clasificadas acorde con el sitio de acción o efecto biológico. Las neurotoxinas, como la toxina tetánica y toxina botulínica, ejercen su acción primaria sobre el sistema nervioso. Las *enterotoxinas* actúan sobre el tracto intestinal. Numerosas bacterias, incluyendo *Shigella dysenteriae*, *E. coli* y *Staphylococcus aureus*, producen enterotoxinas. Las *citotoxinas*, como la toxina diftérica, destruyen las células.

Mención especial merecen las exotoxinas fúngicas producidas por *Aspergillus flavus* y

Claviceps purpureae. Ninguno de esos hongos invaden los tejidos humanos, pero pueden ser responsables indirectos de enfermedad en el hombre por la contaminación de diferentes alimentos.

En los últimos años se ha avanzado considerablemente en definir la estructura y mecanismo de acción de varias exotoxinas bacterianas. Muchas proteínas exotoxinas tienen una estructura A-B. La mitad A de la toxina es la parte activa y es responsable de la toxicidad. El componente B de la toxina es un polipéptido, el cual está unido a la molécula completa por receptores específicos sobre la superficie celular y en muchos casos facilita el paso del componente A, a través de la membrana, al interior del citoplasma.

Las exotoxinas bacterianas tienden a actuar en una de tres amplias formas: lisando las membranas celulares (ejemplo: α -toxina lecitinasasa del *C. perfringens* y estreptolisina O de *S. pyogenes*); causando daño celular por interferencia con la síntesis proteica (toxina de *C. diphtheriae* y exotoxina A de *P. aeruginosa*); o interfiriendo con la función celular por elevación o depresión de las actividades normales (enterotoxina de *V. cholerae*).

Endotoxinas

Las endotoxinas forman el componente lipopolisacárido (LPS) de la membrana externa de las bacterias gramnegativas.

La toxicidad de las endotoxinas reside en el lípido A, y la potencia de estas varía grandemente entre los organismos gramnegativos: algunas son extremadamente tóxicas; mientras que otras no lo son.

La endotoxina es el iniciador primario del choque séptico por bacterias gramnegativas.

La producción de toxinas por las bacterias puede estar mediada por la presencia de un plásmido o un bacteriófago y no necesariamente estar regulada por el cromosoma bacteriano. Las enterotoxinas de *E. coli* y la toxina exfoliativa de *Staphylococcus aureus* están codificadas por plásmidos. Las toxinas que son codificadas por fagos lisogénicos incluyen: la toxina diftérica, las toxinas botulínicas C y D, las toxinas de *Clostridium novyi* y la toxina eritrogénica de los estreptococos (exotoxinas pirogénicas).

Cuadro 14.1. Algunas características de las exotoxinas y endotoxinas

Exotoxinas	Endotoxinas
Excretadas por células vivas; se hallan en concentraciones elevadas en medio líquido	Parte integral de la pared celular de las bacterias gramnegativas. Liberadas por muerte bacteriana y en el crecimiento. Para mostrar actividad biológica no es necesaria su liberación
Pueden ser producidas por bacterias grampositivas y gramnegativas	Sólo se encuentran en las bacterias gramnegativas
Polipéptidos con un peso molecular de 10 000 a 900 000	Lipopolisacáridos complejos. Es probable que la fracción de lípido A sea la causa de la toxicidad
Relativamente inestables; su toxicidad a menudo puede ser destruida con rapidez por calor mayor de 60 °C	Relativamente estables; soportan calor mayor de 60 °C durante horas, sin perder la toxicidad
Muy antigénicas: estimulan la formación de antitoxina en título alto. La antitoxina neutraliza la toxina	Inmunógenos débiles; los anticuerpos son antitóxicos y protectores. La relación entre título de anticuerpo y protección de la enfermedad es menos clara que con antitoxinas
Convertidas a toxoides atóxicos antigénicos que se utilizan para inmunizar (ej.: toxoide tetánico)	No son convertidas a toxoides
Muy tóxicas; mortales para animales de laboratorio en dosis de microgramos o menos	Su toxicidad es moderada; mortales para animales de laboratorio en decenas a centenas de microgramos
Por lo general, se unen a receptores específicos en las células	No se han encontrado receptores celulares específicos para ellas
Por lo común, no producen fiebre en el hospedero	Por lo común, causan fiebre en el hospedero por la liberación de interleucina-1 y otros mediadores
Con frecuencia son controladas por genes extracromosómicos (ej.: plásmidos)	La síntesis está dirigida por genes cromosómicos

Tomado de: Jawetz E y cols. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 15ta ed., 1996.

Enzimas

La invasión bacteriana de los tejidos es facilitada con frecuencia por la liberación de enzimas. Entre ellas se encuentran las hialuronidasas, colagenasas, coagulasas y fibrinolisinias. Además, los hongos pueden elaborar enzimas; ejemplo: los dermatófitos producen queratinasa, la cual les proporciona la habilidad de invadir los tejidos queratinizados, tales como el pelo, la piel y las uñas.

Otras dos enzimas adicionales que parecen ser importantes en la patogenicidad de los hongos son: la fenoloxidasa y la proteinasa. La producción de fenoloxidasa, la tolerancia de temperatura y la encapsulación son mecanismos importantes de patogenicidad para *Cryptococcus neoformans*. La fenoloxidasa es la enzima responsable de la habilidad de *C. neoformans* para producir melanina sobre medios que contengan compuestos fenólicos. La manera en la cual la fenoloxidasa promueve la virulencia no se conoce, pero cepas deficientes de esta enzima son avirulentas para el ratón.

Las proteinasas son designadas como factores de virulencia para *Sporothrix schenckii*, *Aspergillus*, *Candida* y *Coccidioides immitis*. Aunque la función precisa de esas enzimas varía en cada organismo, en general están involucradas en la iniciación, extensión y diseminación de la infección fúngica.

MECANISMOS QUE OCASIONAN DAÑO INDIRECTO SOBRE EL HOSPEDERO (A TRAVÉS DE LOS PROCESOS INMUNOPATOLÓGICOS)

Los organismos pueden causar directamente daño a los tejidos por la producción de toxinas o indirectamente por destrucción mediada por el sistema inmune o reacciones inmunopatológicas, algunas de las cuales son clasificadas como hipersensibilidad. Aunque el daño inmunopatológico es mínimo en la mayoría de las infecciones, en otras es severo y forma la mayor parte de la enfermedad.

Aunque las reacciones de hipersensibilidad inmediata no están asociadas, por lo común, con enfermedades bacterianas, la evidencia sugiere que pueden estar asociadas con enfermedades por hongos e infecciones parasitarias. Grandes cantidades de IgE se producen en respuesta a infestaciones por helmintos. Aunque esos anticuerpos son protectores y participan con los eosinófilos y macrófagos en reacciones contra el parásito, ellos, además, contribuyen a las reacciones anafilácticas. Estas reacciones se observan durante las fases de infección temprana y aguda con helmintos, tales como: esquistosomiasis, filaria, o por *Ascaris*, aunque por este último son consideradas raras. Asimismo, se ha sugerido la presencia de reacciones anafilácticas en la inmunopatología de la aspergilosis alérgica pulmonar asociada con miembros del género *Aspergillus*.

Los autoanticuerpos son producidos en algunas enfermedades parasitarias y han estado implicados en la anemia y glomerulopatía de la malaria, en las lesiones cardíacas y neuronales periféricas de la enfermedad de Chagas, así como en lesiones de retina en la oncocerciasis.

Aunque los eosinófilos, en asociación con la IgE, son importantes en la protección contra las infecciones por helmintos, pueden también contribuir a las reacciones patológicas observadas en estas infecciones. Se plantea que el contenido tóxico de los eosinófilos sea responsable de la mayoría de la destrucción del tejido y responsable de los cambios patológicos observados en el síndrome eosinofílico pulmonar asociado con la filaria y la miocarditis eosinofílica asociada con *Loa loa*.

El daño en algunas enfermedades infecciosas persistentes (hepatitis, malaria, endocarditis, tripanosomiasis) es atribuible a la deposición de los complejos antígeno-anticuerpo en varios tejidos, tales como las paredes de los vasos sanguíneos y los riñones. El efecto combinado de infecciones persistentes de bajo grado con una débil respuesta antibiótica,

conduce a la formación de complejos inmunes crónicos y eventual deposición en los tejidos.

Independientemente del sitio de deposición, esos complejos inmunes son capaces de provocar procesos inflamatorios severos. Activan el complemento, resultando en la generación de diferentes componentes activos biológicamente. Causan la liberación de aminas vasoactivas por las células mastoides y los basófilos, lo cual resulta en un incremento de la permeabilidad vascular.

El extenso daño de los tejidos en los riñones puede conducir a glomerulonefritis por complejo inmune. Esta condición puede ser vista en la malaria, sífilis, esquistosomiasis, pioderma estreptocócico y faringitis, y en la hepatitis sérica. En las tres primeras infecciones la glomerulonefritis se manifiesta clínicamente como un síndrome nefrótico. La evidencia de mecanismos inmunes en esas enfermedades es mantenida por la demostración de inmunoglobulina y complemento en los tejidos dañados.

El extenso daño de los tejidos en los vasos sanguíneos resulta en vasculitis, la cual puede manifestarse clínicamente en diferentes formas, dependiendo de la extensión del daño y los vasos afectados. El eritema nudoso está caracterizado por la presencia de rojos nódulos blandos en la piel, causados por la deposición de antígeno, anticuerpo y complemento en los capilares superficiales. Esta condición se observa después de infecciones estreptocócicas o durante el tratamiento de pacientes con lepra. En la hepatitis sérica, las pequeñas arterias pueden estar afectadas, conduciendo a una poliarteritis nudosa.

Las reacciones de hipersensibilidad retardada son también responsables de los efectos inmunopatológicos. Las linfocinas involucradas en estas reacciones pueden causar daño a los tejidos directa e indirectamente. Los macrófagos que son activados por las linfocinas son capaces de destruir a los organismos invasores, pero también simultánea e indiscriminadamente destruyen los tejidos autólogos.

La formación de granuloma con el subsiguiente daño pulmonar que ocurre en la tuberculosis, se atribuye a reacciones de hipersensibilidad retardada.

RESUMEN

La enfermedad infecciosa surge como resultado de una relación no exitosa entre el parásito y el hospedero.

Los mecanismos por los cuales los microorganismos son capaces de producir enfermedad, se dividen en :

1. Aquellos que permiten la adhesión y multiplicación.
2. Aquellos que permiten la adquisición de nutrientes del hospedero.
3. Aquellos que inhiben el proceso fagocítico.
4. Aquellos que permiten la evasión de la respuesta inmune.
5. Aquellos que ocasionan daño directo sobre el hospedero.
6. Aquellos que ocasionan daño indirecto por la vía de los procesos. inmunopatológicos.

A través del capítulo se analizan y discuten cada uno de estos mecanismos.

BIBLIOGRAFÍA

- Finlay BB, Falkow S. Common Themes in Microbial Pathogenicity Revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 1997;61(2):136-169.
- Howard BJ, Rees JC. Host-Parasite Interactions: Mechanisms of Pathogenicity. *In: Clinical and Pathogenic Microbiology*. 2nd ed. USA: Mosby-Year Book Inc, 1994.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. *Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*. 15ta ed. México D.F.: Ed. El Manual Moderno, 1996.
- Peterson JW. Bacterial Pathogenesis. *In: Medical Microbiology*. 4ta ed. Samuel Baron Ed. USA: The University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996.

A decorative graphic for the chapter header. It features a light-colored, textured oval shape on the left containing the number '15' in a dark purple, serif font. To the right of the oval, the word 'Capítulo' is written in the same dark purple, serif font. A thin horizontal line extends from the right side of the oval, passing through the text 'Capítulo'.

Atributos del hospedero para resistir

Raquel de los A. Junco Díaz
Carlos M. Rodríguez Pérez

INTRODUCCIÓN

El término inmunidad fue utilizado por mucho tiempo para denominar la resistencia del organismo a las infecciones; en la actualidad abarca el estudio de fenómenos muy complejos que incluyen los mecanismos fisiológicos que intervienen en el reconocimiento de sustancias o elementos ajenos a un organismo y las respuestas desarrolladas para neutralizar y eliminar a las mismas. Estas sustancias o elementos ajenos que pueden ser reconocidas por el sistema inmunológico, provienen del medio externo o son resultado de alteraciones de los componentes del propio organismo; ejemplo de los primeros son los microorganismos patógenos, contra los cuales se producen respuestas inmunológicas y que sentaron las bases de esta disciplina.

El sistema inmune también puede reconocer como extraños y como tal eliminarlos, a componentes propios del organismo que han sufrido alteraciones estructurales, por ejemplo, células mutadas que pueden, incluso, llegar a la malignización; este aspecto es de gran importancia en el mantenimiento del estado de salud del individuo.

La respuesta inmunológica posee tres características primordiales: la especificidad, la memoria y la heterogeneidad, y junto a ellas participan otros mecanismos que si bien no poseen estas características, sí están estrechamente relacionados, son los llamados *mecanismos inespecíficos de defensa*, que a continuación describiremos.

MECANISMOS INESPECÍFICOS DE DEFENSA

Los mecanismos inespecíficos de defensa son capaces de diferenciar lo ajeno de lo propio y siempre actúan de igual forma ante lo extraño, pero no modifican su respuesta en un contacto posterior ante ese mismo elemento o sustancia extraña. Están constituidos por:

1. Barrera hística.
2. Respuesta inflamatoria.

3. Fiebre.
4. Respuesta fagocitaria.

La barrera hística constituye un mecanismo fisiológico de defensa, en tanto que en la respuesta inflamatoria y fagocitaria intervienen elementos del sistema inmune.

BARRERA HÍSTICA (FISIOLOGICA)

1. Piel: Pocos microorganismos pueden penetrar la piel intacta, muchos llegan a las glándulas sudoríparas o sebáceas y a los folículos pilosos; allí, a causa del pH ácido y la presencia de ácidos grasos saturados y no saturados, se tiende a eliminar a los microorganismos patógenos. A este nivel encontramos la presencia de lisozima (enzima que posee actividad bactericida) y otras enzimas. Esta lisozima se puede localizar también en las lágrimas, secreciones respiratorias y en el cérvix.

La resistencia de la piel varía con la edad, por ejemplo, los niños son susceptibles a infección por tiña, cosa que no ocurre a partir de la pubertad por la presencia de ácidos grasos saturados en las glándulas sebáceas.

2. Mucosas:

a) *Vías respiratorias*: la presencia de pelos (vibrisas) en la nariz y el reflejo de la tos y el estornudo, constituyen la primera barrera de defensa del aparato respiratorio. La producción de moco en esta región hace que los microorganismos tiendan a adherirse y ser expulsados al exterior mediante la acción de las células ciliadas allí presentes; además, el moco contiene lisozima y otras sustancias antimicrobianas. A este nivel intervienen también los macrófagos pulmonares.

b) *Tracto gastrointestinal*: en él intervienen varios sistemas: enzimas hidrolíticas en la saliva; la acidez gástrica, que destruye a muchos organismos ingeridos, como el *Vibrio cholerae*; y la presencia de enzimas proteolíticas y macrófagos en el intestino delgado.

Es importante destacar que, a nivel de la piel y la mayor parte de las mucosas, existe una flora normal residente que varía con la edad y en las diferentes regiones del organismo; la integridad de la misma impide el establecimiento de microorganismos patógenos (interferencia microbiana).

Otro mecanismo de defensa a nivel de las mucosas (humoral) es la presencia de IgA en la superficie de las células, la cual impide la adhesión del microorganismo a las células epiteliales, a menos que este produzca una enzima (proteasa) que destruya a la IgA.

Cuando un microorganismo logra penetrar a través de las mucosas, es captado por fagocitos y transportado a los ganglios linfáticos, que actúan como barrera para evitar una propagación adicional de gran cantidad de los mismos.

RESPUESTA INFLAMATORIA

La inflamación es un fenómeno biológico que se traduce clínicamente como hiperemia, hipertermia, edema y dolor; es decir, rubor, calor, tumor y dolor.

Ante la presencia de microorganismos infectantes en los tejidos, se inician una serie de eventos para contrarrestar a los mismos:

1. Vasodilatación: acelera la llegada de células fagocíticas al área afectada.
2. Aumento de la permeabilidad capilar: permite la salida de leucocitos (diapédesis) y otros elementos a los tejidos (proteínas como la fibrina, otros tipos de células, etc.).

Con lo anterior se trata de delimitar la zona afectada (acción de la fibrina formando una malla) y, a la vez, es atacado el agente patógeno por las células de defensa y otros elementos. La muerte de los microorganismos, de las células de defensa, la presencia de restos celulares y otras sustancias liberadas de los leucocitos, acidifican el pH y ayudan a controlar la invasión. También participan diferentes mediadores como bradisinina, histamina, serotonina,

prostaglandinas, leucotrienos, citocinas, etc. Además, se activa el sistema del complemento favoreciendo la migración de células fagocíticas hacia el sitio de la infección.

Complemento. Sistema biológico complejo constituido por proteínas séricas que se encuentran normalmente en la circulación como moléculas precursoras inactivas, que pueden volverse miembros de un sistema funcional en el que actúan recíprocamente en reacción de cadena o cascada proteolítica. Estas proteínas poseen actividad enzimática, desempeñando un papel importante tanto en la respuesta inmune como en los procesos inflamatorios. Se simboliza C' y el término como tal se refiere a la capacidad de estas proteínas de complementar (aumentar) los efectos de otros componentes del sistema inmunitario (ejemplo: anticuerpos). Su acción va dirigida contra agentes extraños o contra las células del propio organismo. Es termolábil (se inactiva a 56 °C por 30 min) y se sintetiza en el hígado y células fagocíticas.

Efectos principales

1. Lisis celular (bacterias, células tumorales).
2. Producción de mediadores que participan en la inflamación y atraen fagocitos.
3. Oponización de microorganismos y de inmunocomplejos para ser depurados por fagocitosis.
4. Aumento de las fuerzas inmunitarias mediadas por anticuerpos.

Componentes del sistema C'. El sistema C' está constituido por 11 proteínas séricas principales, desde C1 hasta C9. A su vez, C1 está formado por tres proteínas C1q, C1r y C1s. Por poseer características físico-químicas diferentes, C4 actúa después de C1 y antes de C2.

Activación del C'. Puede ser iniciada por inmunocomplejos o por otros tipos de moléculas no inmunitarias. La misma ocurre por dos vías: clásica y alterna.

1. *Vía clásica:* en ella intervienen todos los componentes del sistema y su activación (complejo antígeno-anticuerpo) transcurre por tres etapas:
 - a) Etapa de reconocimiento (complejo qrs): sólo la IgM o IgG fijan el complemento y de esta última, las subclases 1; 2 y 3. C1q se fija a ellas por el fragmento Fc (agregado de 18 po-lipéptidos). El inmunocomplejo unido a C1 activa a C1s con actividad de estearasa.
 - b) Etapa de activación: la estearasa C1s actúa sobre C4 y C2; C4 se adhiere a la pared celular y posteriormente C2 se adhiere al C4 fijado, liberándose C4b2b que no es otra que la C3 convertasa, la cual actúa sobre C3 y la separa en dos segmentos, C3a (anafilotoxina) y C3b.
 - c) Etapa de ataque a la membrana: C3b se une a C4b2a y forma la C5 convertasa que desdobra a C5 en C5a (anafilotoxina y factor quimiotáctico), y C5b que se fija a C6 y C7 formando complejos reversibles proteína-proteína, los cuales interactúan con la superficie celular; C8 se fija entonces a C5b67 seguido de la polimerización de 16 moléculas de C9 para producir el complejo de ataque a la membrana que produce la lisis celular.
2. *Vía alterna:* esta vía está relacionada con otros sistemas enzimáticos descubiertos en 1954 por Pillemer, que la denominó *sistema properdina*, el cual está constituido por enzimas que al activarse actúan directamente sobre C3 y C5, desencadenando así toda la reacción complementaria. Al sistema properdina lo pueden activar sustancias químicas complejas (endotoxinas de bacterias gramnegativas), sustancias sin función de anticuerpos como el Zymosán (polisacáridos extraídos de levaduras), algunos agentes infecciosos (neumococos) y agregados de Ig que no logran activar la vía clásica.

Al activarse la vía alterna por alguno de los activadores antes mencionados, se rompe C3 y se genera la C3 convertasa (C3b); además, una C3 convertasa alternativa (C3bBb) genera más C3b, que se fija a la convertasa C3 y forma C3bBbC3b (C5 convertasa), la cual genera C5b conduciendo a la producción del complejo de ataque de membrana antes descrito.

Efectos biológicos del C'

1. *Opsonización*: muchos fagocitos poseen receptores C3b en su superficie, la presencia del componente C3b en este receptor (opsonización) facilitará la fagocitosis de células, inmunocomplejos y otras partículas.
2. *Quimiotaxis*: la formación de factores quimiotácticos o quimiotaxinas provoca migración de leucocitos hacia el lugar de la reacción de activación del C'. Los factores quimiotácticos son C3a, C5a y el C567.
3. *Anafilotoxinas*: los factores C3a, C4a y C5a pueden provocar degranulación de las células cebadas, liberando mediadores (ejemplo: histamina) que incrementan la permeabilidad vascular y la contracción del músculo liso.
4. *Citólisis*: el complejo C5b6789 produce lisis de células como: eritrocitos, bacterias y células tumorales.

Consecuencias clínicas por deficiencias de C'. Existen muchas deficiencias genéticas de las proteínas del C', ello conlleva, generalmente, a un aumento de la susceptibilidad a las enfermedades infecciosas. Ejemplo:

- Deficiencia de C2: asociada con infecciones bacterianas piógenas intensas.
- Deficiencia de C5b6789: aumenta la susceptibilidad a las infecciones por neisserias.
- Deficiencia de properdina: mayor susceptibilidad a enfermedades meningocóccicas.

FIEBRE

Manifestación sistémica más común de la respuesta inflamatoria, principal signo de las enfermedades infecciosas.

Las sustancias capaces de producir fiebre (pirógenos) son:

1. Endotoxinas de bacterias gramnegativas.
2. Citocinas (liberadas de células linfoides) como la interleucina-1 (pirógeno endógeno).

Como consecuencia de la temperatura alta (fiebre), la producción de anticuerpos y la proliferación de células T son más eficaces, sin embargo, en el humano no pueden atribuirse efectos benéficos consistentes de la fiebre para el control de la infección.

RESPUESTA FAGOCITARIA

La fagocitosis es un proceso que llevan a cabo los leucocitos y los macrófagos cuando el elemento extraño ha sobrepasado la barrera hística y ha penetrado en el organismo; es una propiedad específica para el sistema celular desarrollado a partir del mesodermo.

Durante la infección bacteriana ocurre un aumento en número de células fagocíticas circulantes, las funciones de las mismas son: migración, quimiotaxis, ingestión y muerte microbiana.

Las principales células fagocíticas son: leucocitos polimorfonucleares (granulocitos), monocitos fagocíticos (macrófagos circulantes) y macrófagos fijos del sistema reticuloendotelial (histiocitos). Estas células fagocíticas son ineficientes en espacios grandes, lisos y abiertos como pleura, pericardio y articulaciones, pero muy eficientes en espacios tisulares pequeños (alveolos) o sobre superficies ásperas.

Para que ocurra la fagocitosis deben cumplirse los siguientes pasos:

1. Fijación.
2. Endocitosis.
3. Digestión.
4. Exocitosis.

Fijación. Reconocimiento por los fagocitos del elemento extraño al organismo y adhesión de este a su superficie.

Endocitosis. Producción de elongaciones por la membrana citoplasmática que engloba al elemento extraño en forma de vacuola digestiva o fagosoma.

Digestión. En el interior de la célula fagocítica existen otras estructuras formadas a partir de la membrana citoplasmática y que contienen en su interior enzimas líticas, estas se denominan lisosomas, que se fusionan con el fagosoma formando un fagolisosoma, en cuyo interior actúan las enzimas lisosomales sobre el elemento extraño, degradándolo.

Los mecanismos funcionales de la muerte intracelular de microorganismos no se conocen del todo, pero incluyen a los no oxidativos (activación de enzimas hidrolíticas y acción de proteínas básicas) y a los oxidativos. Entre estos últimos se han implicado los siguientes: acumulación de H_2O_2 , pH ácido, presencia de la enzima mieloperoxidasa, generación de anión superóxido (O_2^-) y de óxido nítrico (ON).

Exocitosis. Cuando ya está destruido el elemento extraño, la vacuola se adhiere nuevamente a la superficie celular, se fusiona a la membrana y se abre al exterior liberando a los detritos (cuerpo residual).

La fagocitosis puede hacerse más eficiente en presencia de los siguientes mecanismos:

Quimiotaxis. Propiedad de diversas sustancias para inducir la migración de células fagocitarias hacia el lugar donde estas sustancias quimiotácticas están siendo liberadas, que es, precisamente, el sitio donde se encuentra el elemento extraño.

Oponización. Anticuerpos (opsoninas) que se adhieren a la superficie de un agente microbiano y facilitan la fagocitosis en rapidez y mayor número de agentes fagocitados. La oponización se puede producir por tres mecanismos:

1. Un anticuerpo sólo puede actuar como opsonina.
2. Un anticuerpo más un antígeno activan la vía clásica del complemento para actuar como opsonina.
3. La opsonina puede ser producida por un sistema termolábil y así activar a C3 a través de la vía alterna del complemento.

Sistema reticuloendotelial. Actualmente se le denomina *sistema fagocítico mononuclear*. Este sistema incluye células fagocíticas mononucleares presentes en la sangre, tejido linfoide, hígado, bazo, médula ósea, pulmón, etc., y células que cubren los senos sanguíneos y linfáticos como las células Kupffer en el hígado y los histiocitos de tejidos. Una función importante de este sistema es la de filtrar microorganismos de la sangre.

La producción de interferón es un mecanismo de defensa inespecífico que ocurre en el transcurso de una infección viral y es responsable de la inhibición de la replicación en los virus ARN y ADN, lo cual impide la destrucción de las células del hospedero. El interferón es una citoquina con actividad antiviral específica. El interferón- α se origina en los fagocitos mononucleares, el interferón- β en los fibroblastos y el interferón- γ en las células T y en las células asesinas naturales (células NK).

MECANISMOS ESPECÍFICOS DE DEFENSA

Estos mecanismos de defensa dependen de factores específicos basados en respuestas inmunitarias hacia agentes específicos o sus productos. La respuesta inmune es el sistema de defensa altamente específico del hospedero. Este sistema está compuesto por componentes humorales llamados *inmunoglobulinas* y componentes celulares que incluyen linfocitos específicamente activados y sus productos. La respuesta inmunológica está dirigida contra un organismo dado, o a menudo a moléculas específicas en los mismos, tales como la proteína M del *Streptococcus pneumoniae*.

El término inmunidad se refiere a todas aquellas propiedades del hospedero que le confieren resistencia a un agente infeccioso determinado. Se clasifica en: natural y adquirida.

La *inmunidad natural* es aquel tipo de resistencia que tiene una especie contra determinados agentes patógenos. Se considera, en general, como una barrera inespecífica, eficaz contra muchos tipos de agentes infecciosos; por lo tanto, se prefiere el término resistencia natural al de inmunidad natural.

Como ejemplos se pueden citar:

1. *De especie*: la infección por *Neisseria gonorrhoeae* sólo se observa en los humanos.
2. *Por influencias hormonales y metabólicas*: las personas que padecen *Diabetes mellitus* son menos resistentes a los procesos infecciosos.
3. Existen otros factores que influyen en el estado de resistencia, como: la nutrición, la edad, etcétera.

La *inmunidad adquirida* es aquella que se produce como resultado de la exposición a un inmunógeno, el cual provoca una respuesta inmune por parte del hospedero; puede ser pasiva o activa (Cuadro 15.1).

La *inmunidad adquirida pasiva* es inducida por la administración de anticuerpos o células preformadas en otro hospedero, ejemplo: la transferencia pasiva de anticuerpos de la madre al feto durante el embarazo y al niño durante la lactancia; la administración de antitoxinas tetánica, diftérica, entre otras.

La *inmunidad adquirida activa* es aquella que se obtiene mediante el contacto efectivo con microorganismos o sus productos. Este contacto puede consistir en:

1. Infección clínica o subclínica.
2. Inmunización con agentes infecciosos vivos atenuados o muertos, o sus antígenos, ejemplo: vacuna oral contra la polio.
3. Inmunización con toxoides, como: toxoide tetánico.

Cuadro 15.1. Algunas diferencias entre la inmunidad adquirida activa y pasiva

Inmunidad adquirida activa	Inmunidad adquirida pasiva
Requiere contacto previo con el antígeno	No requiere contacto con el antígeno
Se producen anticuerpos y células específicas	No se producen anticuerpos ni células específicas
Comienzo tardío	Comienzo inmediato
Dura mucho tiempo	Dura poco tiempo

CARACTERÍSTICAS DEL SISTEMA INMUNE

La respuesta inmune tiene que cumplir con características que la identifican: especificidad, heterogeneidad, memoria, ser inducible y transferible.

La *especificidad* se refiere a la característica de desarrollar una respuesta inmune hacia un antígeno extraño (microorganismo determinado o parte de él), lo cual no confiere protección hacia otro no relacionado.

El sistema inmune del humano es capaz de reconocer lo "ajeno" de lo "propio". Durante su existencia se enfrenta a un número indeterminado de antígenos y responde a cada uno de ellos; esta capacidad de respuesta ilimitada del sistema inmune es lo que se denomina *heterogeneidad*.

La característica del sistema inmune de reconocer un antígeno con el cual ha estado previamente en contacto y modificar su respuesta se llama *memoria*.

La *inducción* se refiere a que la respuesta inmune no ocurre de manera fortuita, sino que tiene lugar ante la presencia de lo extraño, de forma tal que se induce la respuesta inmune para ese elemento extraño y no para otro.

La respuesta inmune *es transferible*, es decir, las células y los anticuerpos específicos que se forman en un organismo, pueden ser transferidos a otro a través de la sangre o sus derivados.

RESPUESTA PRIMARIA Y RESPUESTA SECUNDARIA

La respuesta que se obtiene a una primera exposición a un antígeno determinado (respuesta primaria) difiere de la que se desarrolla en una segunda exposición al mismo antígeno (respuesta secundaria).

La *respuesta inmune primaria* a la mayoría de los antígenos se caracteriza por:

1. Presentar un período de latencia prolongado (días), en el cual los anticuerpos no son generalmente detectados en el suero sanguíneo.
2. El título de anticuerpos que se produce no es muy elevado y su duración es corta.
3. La IgM es la primera inmunoglobulina que aparece y a un título más elevado que la IgG.
4. La concentración de IgM declina más rápidamente que la concentración de IgG.
5. Se forman células de memoria que se diferencian parcialmente y que explican las características de la respuesta secundaria.

La *respuesta inmune secundaria* se caracteriza por:

1. Presentar un período de latencia más corto que en la respuesta primaria.
2. El título de anticuerpos que se alcanza es mucho mayor y permanecen en el suero sanguíneo durante un período más prolongado.
3. Aparece la IgG a un título más elevado que la IgM.
4. La concentración de IgG declina hasta un límite, que puede durar toda la vida.
5. Las células de memoria formadas y diferenciadas parcialmente en la respuesta primaria alcanzan más rápido el estadio de células productoras de anticuerpos, y por ello hacen que el tiempo de latencia sea más corto y la concentración de los mismos más elevada.

ANTÍGENOS (Ag)

A través del estudio de los procesos inmunológicos, se ha observado la presencia de ciertos elementos extraños al organismo, que son capaces de desencadenar dichos procesos. Los antígenos son elementos extraños al organismo capaces de combinarse con los efectores de la respuesta inmune; mientras que los inmunógenos desencadenan esta respuesta y se combinan con los efectores de la misma.

Por otro lado, se entiende por *hapteno* a aquellas sustancias extrañas al organismo, de bajo peso molecular y poca complejidad estructural (ejemplo: hidratos de carbono, péptidos, lípidos, etc.) que no son capaces, por sí solas, de activar el sistema inmune; sin embargo, si se unen a una proteína inmunogénica (proteína portadora) pueden comportarse como inmunógenos.

Los grupos determinantes antigénicos son aquellos sitios de la molécula que inducen la respuesta inmune y reaccionan con los anticuerpos o las células específicamente sensibilizadas como consecuencia de esa respuesta; es en estas estructuras donde radica el poder antigénico de la molécula que determina la especificidad de las reacciones antígeno-anticuerpo.

La *antigenicidad* se define como la capacidad que tiene una sustancia para combinarse con un anticuerpo o con una célula específicamente sensibilizada. El término *inmunogenicidad* se refiere a la capacidad de una sustancia para estimular el desarrollo de la respuesta inmune (humoral, celular o ambas).

Características generales de los antígenos

Las características de los antígenos que determinan inmunogenicidad en la respuesta inmunitaria son las siguientes:

1. Ser reconocidos como extraños o no propios; las moléculas reconocidas como "propias" no son inmunógenas.
2. Poseer complejidad química y estructural.
3. Ser macromoléculas, con un peso molecular mayor que 10 000; los inmunógenos más potentes son proteínas.
4. Estar presentes en una cantidad óptima para poder inducir una respuesta inmune.
5. Ser poco solubles; se recomienda administrarlos con sustancias adyuvantes.

Cada inmunógeno tiene su modo característico de entrar (o ser administrado) en el organismo, lo cual determina, en parte, su capacidad de inducir la respuesta inmune, así como el tipo de respuesta. En términos generales, la mejor vía de inmunización es la parenteral.

Clasificación de los antígenos

Los antígenos pueden ser clasificados de la siguiente forma:

1. Xenoantígenos o antígenos xenogénicos.
2. Aloantígenos o antígenos alogénicos.
3. Autoantígenos o antígenos singénicos.

Los *xenoantígenos* o *antígenos xenogénicos* son característicos de una especie determinada y resultan extraños para las demás especies: ejemplo antígenos bacterianos, virales, etc., en relación con el hombre.

Se denominan *aloantígenos* o *antígenos alogénicos* aquellos que están presentes en una determinada especie y resultan extraños para individuos de esa misma especie que no lo poseen; ejemplo: grupos sanguíneos.

Los *autoantígenos* o *antígenos singénicos* son componentes del propio organismo que sufren alteraciones estructurales las cuales le confieren antigenicidad. También pueden adquirir esta cualidad si se trata de sustancias que normalmente no se ponen en contacto con el sistema inmune del individuo, si por alguna causa este contacto ocurre (ejemplo: proteínas del cristalino).

ANTICUERPOS (Ac)

Son proteínas, sintetizadas solamente por los vertebrados, que se forman en respuesta a un inmunógeno y reaccionan específicamente con este. Pertenecen a un tipo especial de proteínas globulares o esferoproteínas del tipo globulinas, con un componente de carbohidratos; por lo tanto son glicoproteínas, denominadas *inmunoglobulinas*. Forman alrededor del 20 % de las proteínas plasmáticas.

Cuando las moléculas de inmunoglobulina se observan por el microscopio electrónico, se visualiza que son moléculas en forma de "Y", que se abren al combinarse con el antígeno.

Al igual que otras proteínas complejas, están constituidas por múltiples cadenas polipeptídicas, cada una de ellas bajo control genético independiente; por lo que difieren en su estructura primaria.

Estructura y funciones de las inmunoglobulinas

La actividad funcional de las inmunoglobulinas sólo puede ser entendida sobre la base del conocimiento de su estructura. Cada Ig está formada por una unidad básica o monómero, compuesta por cuatro cadenas polipeptídicas que se unen por covalencia mediante puentes disulfuro: dos cadenas pesadas (H) idénticas entre sí, con un peso molecular que varía de 50 000 a 70 000 dalton; y dos cadenas ligeras (L) idénticas entre sí, cuyo peso molecular es de 25 000. Las cadenas ligeras pertenecen a uno de dos tipos, κ (kappa) o λ (lambda); la clasificación se hace con base en diferencias de aminoácidos en sus regiones constantes. Los dos tipos existen en todas las clases de inmunoglobulinas (IgG, IgM, IgA, IgE e IgD), pero una molécula determinada de Ig contiene un solo tipo de cadena L. Las cadenas pesadas son distintas para cada una de las cinco clases de inmunoglobulinas y se designan: γ (gamma), μ (my), α (alfa), δ (delta) y ϵ (épsilon) (Cuadro 15.2).

Cuadro 15.2. Algunas propiedades de las inmunoglobulinas humanas

	IgG	IgA	IgM	IgE	IgD
Símbolo de la cadena pesada	γ	α	μ	ϵ	δ
Peso molecular (x 1 000)	150	170 o 400*	900	190	150
Concentración sérica (mg/mL)	0,5 a 10	0,5 a 3	1,5	0,003	0,03
Vida media en suero (días)	23	6	5	1 a 5	2 a 8
Fijación del complemento	+	-	+	-	-
Porcentaje respecto a la inmunoglobulina total en suero	80	13	6	< 1	< 1

* En secreciones, por ejemplo, saliva, leche y lágrimas; y en secreciones de vías respiratorias, intestinal y genital.

Tomado de: Jawetz E y cols. Manual de Microbiología Médica. 9na ed., 1981.

Cada cadena polipeptídica tiene una porción NH_3^+ terminal, la cual presenta una variación considerable en la secuencia de aminoácidos (región variable), y una porción COO^- terminal, donde la secuencia de aminoácidos permanece casi igual (región constante).

La porción aminoterminal de cada cadena L y H participa en el sitio de fijación de antígenos; el otro extremo (carboxilo) forma el fragmento Fc, que tiene varias actividades biológicas (ejemplo: activación del complemento y fijación a receptores de la superficie celular).

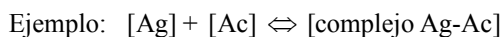
Se ha demostrado que los sitios de combinación con el antígeno (porción Fab) están relacionados con aquellas partes de la molécula que contienen las regiones variables y se considera que la especificidad de combinación de los diferentes anticuerpos es responsabilidad de la heterogeneidad de esta estructura. La presencia de estas regiones variables en las cadenas pesadas y ligeras implica que ambas contribuyen a la especificidad de los anticuerpos.

Proceso físico-químico de la interacción antígeno-anticuerpo

La interacción antígeno-anticuerpo es muy semejante a lo que ocurre entre una enzima y su sustrato, en la cual la enzima tiene en su superficie un sitio con el cual puede unirse al sustrato con un alto grado de especificidad.

Por poseer configuraciones de carácter complementario el sitio activo de combinación del anticuerpo y el determinante antigénico, las dos moléculas pueden ajustarse apretadamente y producirse un gran acercamiento entre las superficies de ambas. Debido a esto, la distancia intermolecular se hace muy pequeña y las fuerzas de interacción entre ambas superficies se incrementan considerablemente; cuanto mayores sean las áreas de antígeno y de anticuerpo que se ajusten entre sí, mayor será la fuerza de atracción entre ambas.

Otro aspecto importante es la relación entre las concentraciones de antígeno (Ag) y anticuerpo (Ac). Cuando las concentraciones de ambos son óptimas, es decir, no hay ninguno de los dos en exceso, todas las moléculas participan en la formación del complejo antígeno-anticuerpo.



Además, en este proceso hay que tener en cuenta otros factores que influyen en su desarrollo; entre los que se pueden citar: el pH, la temperatura, la presencia de iones y fuerzas que mantienen unido al antígeno con el anticuerpo. Estas fuerzas de interacción son: coulombicas, enlaces de hidrógeno, enlaces hidrófobos y fuerzas de Van der Waals.

Avidez y afinidad de los anticuerpos

La afinidad se describe como la fuerza de combinación del sitio activo del anticuerpo con un determinante antigénico aislado, de los muchos que puede poseer un antígeno.

La avidéz se refiere a la fuerza de combinación entre los distintos anticuerpos de un suero inmune y la molécula antigénica completa que puede poseer muchos determinantes antigénicos diferentes.

DINÁMICA DE LA RESPUESTA INMUNE

La respuesta inmune está caracterizada por su especificidad única para el microorganismo o producto microbiano responsable de su producción. Esta especificidad, además posee mecanismos complejos que permiten la discriminación entre los antígenos "propios" y los antígenos extraños. La respuesta inmune es altamente regulada por células linfoides o sus productos. La interacción de células, productos celulares y signos moleculares secundarios resultan en una expresión o manifestación de la respuesta inmune en una de tres maneras:

1. Producción de inmunoglobulinas.
2. Respuesta inmune mediada por células T específicas.
3. Un estado de no respuesta específica inmunológica llamada tolerancia.

Entre las muchas células involucradas en la respuesta inmune se encuentran las presentadoras de antígenos pertenecientes a los linfocitos T y B. Tanto las células B como las T, participan en la producción de anticuerpos o inmunidad humoral. Además, las T son responsables de la inmunidad mediada por células y del control de la respuesta inmune específica.

Las células B y T se originan en los órganos linfoides primarios, en los cuales maduran o se desarrollan hacia células inmunológicamente competentes. En las aves, las células B maduran en la Bursa de Fabricio. En el humano, las estructuras con una función equivalente lo constituyen la médula ósea y el tejido linfoide. Las células T maduran en el timo. Las células T y B abandonan los órganos linfoides primarios después de su maduración y migran a otros sitios específicos dentro de los órganos linfoides secundarios (bazo, ganglios linfáticos y tejido linfoide asociado al tubo digestivo). Las células T también migran desde los órganos linfoides secundarios y circulan por todo el cuerpo a través de la sangre y la linfa; esta circulación brinda la oportunidad de encontrar antígenos que puedan estar presentes en los tejidos periféricos. La mayoría de las células B no circulan, sino que se mantienen en los órganos linfoides secundarios. Tanto las células T como las B son portadoras de receptores de superficie que les confiere a las mismas especificidad antigénica.

RESPUESTA INMUNE CELULAR

La capacidad para responder a estímulos inmunitarios reside, principalmente, en las células linfoides. Durante el desarrollo embrionario, los precursores de la célula sanguínea se encuentran en el hígado fetal y otros tejidos; en la vida posnatal, las células precursoras residen en la médula ósea. En el hígado y en la médula ósea, las células madres se diferencian en células de la serie eritrocitaria o de la serie linfoide. Las células precursoras linfoides forman dos poblaciones linfocitarias principales, células B y T.

Las células T son linfocitos que requieren maduración en el timo (timodependientes) para formar diferentes subtipos con funciones específicas; son el origen de la inmunidad mediada por células o respuesta inmune celular e incluyen: células inductoras, transductoras y efectoras. Estas células se diferencian por sus determinantes antigénicos y sus funciones. Las células inductoras se clasifican, funcionalmente, en: auxiliaadoras y supresoras.

Las células inductoras están preparadas para responder a señales provenientes de los macrófagos procesadores de antígenos, y dirigirse al sitio donde se producirá la respuesta inmune que incluye: la diferenciación de las células B en células plasmáticas, la activación de células T citotóxicas, supresoras y células T involucradas en la hipersensibilidad retardada.

EVENTOS

La exposición a un inmunógeno determinado desencadena una serie compleja de respuestas. La expresión de la inmunidad celular requiere la interacción cooperativa de las distintas poblaciones celulares.

En estos mecanismos de interacción desempeña un papel determinante el macrófago y su participación incluye tres eventos fundamentales:

1. *Procesamiento del antígeno*: los antígenos son captados por los macrófagos, el 90 % de los mismos es degradado por enzimas lisosómicas y el 10 % restante reaparece en la superficie bajo la forma de un complejo con proteínas codificadas por el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) y son presentados a los linfocitos T auxiliares (T_H).
2. *Presentación del antígeno*: después del procesamiento, el antígeno deviene más inmunogénico y es reconocido por receptores específicos en la superficie de las células T (T_H).
3. *Liberación de mediadores*: luego del reconocimiento del antígeno, el macrófago libera interleucina-1 que estimula la maduración de células T receptoras para el segundo mediador, interleucina-2 (IL-2), y la liberación de IL-2, lo cual da origen a una completa activación-multiplicación de células T (T_H). La completa activación de las células T se traduce por:
 - a) Liberación de mediadores solubles (linfocinas).
 - b) Diferenciación de células T efectoras (citotóxicas, memoria).

La inmunidad mediada por células estimula el desarrollo de la hipersensibilidad retardada y sirve en la defensa contra agentes intracelulares (micobacterias), hongos, protozoarios y algunos virus.

COOPERACIÓN CELULAR EN LA RESPUESTA INMUNE

Aunque la producción de anticuerpos es función de células derivadas de los linfocitos B, se ha comprobado que para que se produzca la respuesta humoral contra ciertos inmunógenos son necesarias la presencia y la colaboración de los linfocitos T. A los inmunógenos que necesitan la presencia de los linfocitos T para que se produzcan anticuerpos contra ellos se les ha llamado *inmunógenos timodependientes*. Este fenómeno, mediante el cual los linfocitos T intervienen directamente en la síntesis de anticuerpos contra los inmunógenos timodependientes, recibe el nombre de *cooperación celular*.

RESPUESTA INMUNE HUMORAL

En el desarrollo de la respuesta inmune humoral, o sea, mediada por anticuerpos, se ha demostrado la participación de células T como cooperantes en el mecanismo de inmunorrespuesta.

El mecanismo de activación de las células B es complejo y la hipótesis más aceptada propone los siguientes pasos:

1. Activación de los linfocitos T (T_H) a través de la interacción con el macrófago.
2. Formación de un puente con el antígeno que involucra al receptor del linfocito T_H y al receptor del linfocito B (inmunoglobulina), después del contacto se libera un factor soluble específico que induce a la célula B a la activación, transformándola en blástica y con expresión de receptores en su superficie.
3. Liberación del factor de crecimiento por células B que lo estimula a la proliferación. Este factor puede ser liberado también por los T_H .
4. Fase de maduración: ocurre bajo el factor de maduración de las células B y también puede ser liberado por T_H ; su acción es la transformación en células plasmáticas formadoras de anticuerpos específicos.

La respuesta inmune mediada por anticuerpos es importante contra patógenos que producen toxinas (*Clostridium tetani*) o que poseen cápsulas de polisacáridos las cuales dificultan la fagocitosis (neumococos).

Los dos tipos de respuesta inmune, la mediada por células y la mediada, por anticuerpos se desarrollan de modo concurrente.

El resultado neto de una inmunidad eficaz es la resistencia del hospedero al patógeno microbiano y a otros elementos extraños. Por el contrario, una inmunidad deficiente se manifiesta como una susceptibilidad excesiva a estos patógenos o a otros elementos extraños.

HIPERSENSIBILIDAD

Se denomina así al fenómeno mediante el cual el sistema inmune de un individuo responde de una forma alterada o exagerada ante una sustancia extraña, lo que trae como consecuencia lesiones hísticas. Esta forma de respuesta tiene la característica de poseer memoria y especificidad inmunológica. También se conoce con el nombre de *alergia*.

Hay cinco tipos de reacciones de hipersensibilidad o alergia que se diferencian teniendo en cuenta el tiempo de aparición de las manifestaciones después del contacto con el antígeno (alergeno) y el tipo de efector.

Según el tiempo de aparición de las manifestaciones, pueden ser: inmediatas o retardadas. En las *inmediatas*, las manifestaciones aparecen antes de transcurridas 24 horas del contacto desencadenante con el antígeno, y están relacionadas con la aparición de anticuerpos. En las *retardadas*, las manifestaciones aparecen después de 24 horas del contacto desencadenante con el antígeno, y están relacionadas, en lo esencial, con la presencia de linfocitos T específicamente sensibilizados.

Según el tipo de reacción, pueden ser:

1. Hipersensibilidad tipo I o reacción anafiláctica.
2. Hipersensibilidad tipo II o reacción citotóxica.
3. Hipersensibilidad tipo III o mediada por complejos antígeno-anticuerpo.
4. Hipersensibilidad tipo IV o retardada.
5. Hipersensibilidad tipo V o estimuladora.

Se conoce que los tipos I, II, III y V se corresponden con el grupo de las inmediatas y que son mediadas por anticuerpos; mientras que el tipo IV es retardada y está mediada por linfocitos T.

SENSIBILIZACIÓN

Cuando un organismo se pone en contacto por primera vez con un inmunógeno, su sistema inmunitario responde con producción de anticuerpos, estimulación de los linfocitos T o ambos fenómenos a la vez, y se dice que ese organismo ha quedado inmunizado o sensibilizado. Cuando el tipo de respuesta es la que ocurre normalmente, se habla de *inmunización*, y cuando el tipo de respuesta es anormal, se refiere a *sensibilización*. Cuando ocurre un segundo contacto, se desencadena la respuesta secundaria esperada, o se pone de manifiesto el fenómeno de hipersensibilidad con las consecuencias ya señaladas (lesión hística).

En muchos casos no es posible conocer previamente cuándo se producirá una inmunización o una sensibilización, aunque en algunos se relaciona con la presencia de factores genéticos, así como su dependencia de la dosis, vía de administración y tipo de antígeno.

Hipersensibilidad tipo I o anafiláctica

Cuando el sistema inmune de un individuo se enfrenta a un inmunógeno (alergeno), se incrementa la producción de IgE (anticuerpos reagénicos), la cual tiene la propiedad biológica de unirse a los mastocitos (células cebadas) y basófilos a través de una porción del fragmento Fc.

La IgE, en este tipo de hipersensibilidad, se produce en mayores cantidades, se fija a los mastocitos y basófilos, y queda el organismo sensibilizado. Cuando ese mismo inmunógeno

ingresa de nuevo en el organismo, se une a las IgE fijadas en las células y que son específicas para ese alérgeno. Como consecuencia de esta unión se desencadenan mecanismos que tienen como resultado la ruptura de los gránulos presentes en los mastocitos y basófilos, y que contienen varias sustancias, como son: histamina, bradiquinina, serotonina y sustancia de reacción lenta de la anafilaxia, entre otras. Al liberarse estas sustancias de los gránulos, pasan a la circulación y son responsables, mediante su acción en distintos niveles, de las manifestaciones de este tipo de hipersensibilidad. A estas sustancias liberadas se les ha denominado genéricamente *aminas vasoactivas*, que son los mediadores activos de este tipo de respuesta.

Las acciones fundamentales de este grupo de sustancias se efectúan en dos niveles:

1. *Vasos sanguíneos*: aumento de la permeabilidad vascular.
2. *Musculatura lisa*: contracción.

Este fenómeno puede producirse por picaduras de insectos, inhalación de polen, inhalación de polvo que contiene productos de algunos insectos, pelos de animales, ingestión de determinados alimentos, empleo de algunos medicamentos, etcétera.

Según su localización, estas reacciones pueden ser: locales o generales, en dependencia del tipo de inmunógeno, la vía de ingreso al organismo y la dosis.

1. *Locales*: se producen, generalmente, por inhalación, ingestión o contacto de la piel con el antígeno; ejemplo: algunos tipos de asma bronquial, intolerancia a algunos alimentos, dermatitis atópica.
2. *Generalizadas*: ocurren con mayor frecuencia cuando el inmunógeno es administrado por vía parenteral, o cuando se absorben grandes cantidades por otra vía; ejemplo: choque anafiláctico, producido por la administración de algunos medicamentos, tales como la penicilina.

Hipersensibilidad tipo II o citotóxica

Esta reacción trae como resultado la destrucción celular y participan la IgG o la IgM. En este tipo de hipersensibilidad actúa como elemento extraño un componente estructural de una célula, o un antígeno o hapteno que ha establecido una asociación íntima con las células de los tejidos. Como respuesta se forman IgG o IgM (o ya están presentes), que al unirse al elemento extraño producen algunos de los siguientes fenómenos:

1. Fagocitosis por adherencia opsonica.
2. Citotoxicidad no fagocítica (por activación del C').
3. Lisis por intervención del C'.

Como ejemplos de este tipo de reacción están: reacciones postransfusionales (ABO y Rh), enfermedad hemolítica del recién nacido, glomerulonefritis aguda y reacción a medicamentos.

Hipersensibilidad tipo III o mediada por complejos antígeno-anticuerpo

En este tipo de reacción el inmunógeno tiene estabilidad y permanencia prolongadas en el organismo, lo cual hace que el contacto inicial produzca la sensibilización y la posterior producción de anticuerpos, de forma que sus concentraciones en relación con las del antígeno estén en exceso o en defecto.

De esta forma pasan a la circulación anticuerpos de la clase IgG (anticuerpos precipitantes) que al reaccionar con el inmunógeno forman complejos antígeno-anticuerpo que precipitan dentro o alrededor de los pequeños vasos de algunos órganos y se depositan en ellos. Estos depósitos de complejos desencadenan fenómenos tales como: liberación de histamina,

afectación plaquetaria, activación del factor XII de la coagulación y de forma general habrá una respuesta inflamatoria, activación del C' y lesión hística, entre los más importantes.

Las manifestaciones de este fenómeno pueden ser: generales (enfermedad del suero) o locales (fenómeno de Arthus), en dependencia de la proporción relativa de antígeno o anticuerpo, aunque la intensidad de la reacción depende de sus cantidades absolutas.

Hipersensibilidad tipo V o estimulatoria

Este tipo de reacción es el menos conocido. Se plantea que existen anticuerpos los cuales actúan sobre receptores de superficie de muchas células y las estimulan para que produzcan, de una forma no controlada, alguna sustancia que produce normalmente. Ejemplo de ello es el estimulador tiroideo de larga duración, el cual actúa sobre las células de los folículos tiroideos, estimulándolas a producir tiroxina en mayores cantidades de lo normal.

Hipersensibilidad tipo IV o retardada

El inmunógeno estimula la producción de linfocitos T específicamente sensibilizados; estos linfocitos, al entrar en contacto por segunda vez con el mismo inmunógeno, liberan unas sustancias denominadas linfoquinas, que son los mediadores de este tipo de reacción.

Entre las linfoquinas más importantes tenemos:

Factores quimiotácticos: atraen macrófagos y otras células fagocíticas hacia el sitio de reacción.

Factor inhibidor de la migración: impide que las células fagocíticas abandonen la zona de reacción.

Linfotoxinas: producen destrucción celular directa.

Debido a la acción de algunas linfoquinas, se produce un fenómeno en virtud del cual, en la zona donde se está produciendo la reacción, permanecen y actúan células que no están específicamente sensibilizadas; a este fenómeno se le denomina reclutamiento celular. La lesión hística es consecuencia de la acción de las linfoquinas, los fagocitos reclutados y de los linfocitos T transformados en células "asesinas".

Como ejemplo de este tipo de reacción está la prueba de Mantoux o de reacción a la tuberculina.

INMUNIZACIÓN

El término inmunización o vacunación se refiere a la aplicación de inmunógenos con el fin específico de provocar una respuesta inmune protectora.

En la actualidad se dispone de diferentes tipos de vacunas, como son: toxoides; subunidades de polisacáridos o polisacáridos conjugados; microorganismos muertos, vivos atenuados e inmunógenos obtenidos por ingeniería genética.

Para que una vacuna sea verdaderamente útil, debe cumplir con las siguientes condiciones:

1. *Que sea inocua:* que no se generen fenómenos secundarios a consecuencia de su aplicación.
2. *Que sea eficaz:* que se logre una respuesta inmune enérgica.
3. *Que sea duradera:* que la protección que se alcance como resultado de la respuesta inmune sea de larga duración y de preferencia por toda la vida.

Si se espera que una vacuna sea la vacuna ideal, deberá cumplir con las siguientes condiciones:

1. Que la respuesta inmune que induzca sea igual, o similar, a la obtenida por la infección natural.
2. Que se logre una protección contra la enfermedad de más del 90 %.
3. Que el uso de la vacuna no ocasione efectos secundarios.

4. Que la vacuna preferentemente sea de aplicación con una sola dosis.
5. Que la vía de aplicación sea la oral.
6. Que su aplicación se ejecute lo más temprano posible en la vida de los individuos.
7. Que sea estable en condiciones medioambientales.
8. Que sea de fácil producción y de bajo costo.
9. Que sea compatible con otras vacunas para poder utilizarla en vacunas múltiples.

El desarrollo de vacunas a través de la historia, ha proporcionado a la humanidad protección contra diversas enfermedades infecciosas, incluyendo la erradicación mundial de la viruela, de la polio en varios países (Cuba, entre ellos), y el control de otras como: la fiebre amarilla, sarampión, rubéola, tétanos, difteria, tos ferina, entre muchas más (Cuadro 15.3).

Cuadro 15.3. Esquema de vacunación infantil en Cuba

Tipo de vacuna	Número de dosis			Reactivación	Cantidad de dosis	Vía de administración	Lugar de aplicación
	1ra	2da	3ra				
BCG	Alta maternidad	-	-	-	0,05 mL	i.d.	Deltoides
HBV*	Entre 12 y 24 horas de nacido	1 M	2 M	12 M	0,5 mL	i.m.	1/3 medio CALM
HBV**	Entre 12 y 24 horas de nacido	1 M	6 M	-	0,5 mL	i.m.	1/3 medio CALM
DPT	2 M	4 M	6 M	15 M	0,5 mL	i.m.	1/3 medio CALM
Hib	2 M	4 M	6 M	15 M	0,5 mL	i.m.	1/3 medio CALM
AM-BC	3 M	5 M	-	-	0,5 mL	i.m.	1/3 medio CALM
PRS	12 M	-	-	-	0,5 mL	i.m.	Deltoides
DT 1er G	-	-	-	5-6 a	0,5 mL	i.m.	Deltoides
AT 5to G	9-10 a	9-10 a	-	-	0,5 mL	s.c.	Deltoides
AT 8vo G	-	-	-	12-13 a	1 mL	s.c.	Deltoides
TT 9no G	-	-	-	13-14 a	0,5 mL	i.m.	Deltoides
AT 11no G	-	-	-	15-16 a	1 mL	s.c.	Deltoides

* Hijos de madres positivas a HB_sAG; ** Hijos de madres negativas a HB_sAG; G grado de escolaridad. i.d. intradérmica; i.m. intramuscular; s.c. subcutánea; CALM cara anterolateral del muslo. Vacuna antipolio (OPV) por campaña.

RESUMEN

Ante la presencia de microorganismos infectantes en los tejidos del hospedero, se inician una serie de eventos que se clasifican en: inespecíficos y específicos. Los mecanismos de resistencia inespecíficos actúan de igual forma para la mayoría de los agentes patógenos y están constituidos por: las barreras hísticas (piel y mucosas), la respuesta inflamatoria (mecanismos de producción, complemento), la fiebre y la respuesta fagocitaria.

Los mecanismos de resistencia específicos están basados en respuestas inmunitarias hacia un organismo dado, o a menudo a moléculas específicas en los mismos. Este sistema está compuesto por componentes humorales llamados inmunoglobulinas y componentes celulares que incluyen linfocitos específicamente activados y sus productos. Las inmunoglobulinas o anticuerpos se forman durante la respuesta inmune y se combinan de forma específica con el antígeno, participan en la respuesta primaria y secundaria. Los linfocitos T y células del sistema fagocítico mononuclear son los encargados de la respuesta mediada por células.

La respuesta inmune en ocasiones puede causar daño al hospedero, lo que se conoce como hipersensibilidad o alergia, la cual requiere de una exposición previa con el antígeno (sensibilización).

BIBLIOGRAFÍA

- Romero Cabello R. Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. 2da ed. México: Ed. Médica Panamericana, 1999.
- Howard BJ, Rees JC. Host-Parasite Interactions: Mechanisms of Pathogenicity. *In: Clinical and Pathogenic Microbiology*. 2da ed. USA: Mosby Year Book Inc, 1994.
- Naim R. Inmunología. *En: Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*. 15ta ed. México D.F.: Ed. El Manual Moderno, 1996.

SECCIÓN III

Bacterias



Taxonomía, clasificación y nomenclatura de las bacterias

Teresita A. Leiva Sánchez

INTRODUCCIÓN

En la práctica, la *taxonomía* consiste en la clasificación, identificación y nomenclatura de los microorganismos. Diversos grupos de especialistas con frecuencia clasifican el mismo organismo con diferentes criterios o en diferentes niveles (especies, serotipos, presencia de una mutación o gen específico y otras), por lo que el propósito de la clasificación está orientado siempre a un fin. La *identificación* es la aplicación práctica de esquemas de clasificación con el propósito de aislar y distinguir un microorganismo dado de otros, bien para verificar la autenticidad o las propiedades especiales de un cultivo, o bien para aislar e identificar el agente causal de una enfermedad. La *nomenclatura* es el mecanismo a través del cual se definen y comunican las características de un grupo taxonómico. Resulta esencial que el uso de los nombres tenga el mismo significado para todos los microbiólogos, especialmente a nivel de género y especie, ya que hay casos en que el mismo microorganismo ha sido clasificado en dos géneros diferentes o tiene dos nombres distintos en cuanto a especie.

Como todas las ciencias, la taxonomía es dinámica y está sujeta a cambios en los criterios de clasificación e identificación, así como en el reconocimiento de nuevas especies. El propósito de la clasificación y la identificación es proporcionar la capacidad de distinguir microorganismos entre sí y agrupar otros similares, sobre la base de criterios unánimes o del consenso de los microbiólogos. El propósito de la nomenclatura es brindar un adecuado sistema de comunicación que permita referirse a determinado microorganismo, sin necesidad de hacer alusión al listado de sus características.

El término "especie" aplicado a las bacterias se define como un grupo dado de microorganismos que guardan estrecha semejanza en sus características generales y rasgos distintivos en los niveles más esenciales de organización. Esta definición es ambigua y subjetiva, pues es muy difícil establecer el significado de sus términos. El propósito de la nomenclatura es brindar un adecuado sistema de comunicación, el cual permita referirse a determinado microorganismo, al que luego se han ido agregando las características serológicas, fagotípicas, las taxométricas (taxonomía numérica), las basadas en la secuencia de genes en el ADN, la proporción de bases (contenido de G + C) en el ADN, el tamaño del genoma y más recientemente los métodos de biología molecular, que identifican "clonos" de

bacterias que tienen un origen común. Entre estos últimos métodos de clasificación se encuentran:

1. Sondas de ácidos nucleicos, que permiten detectar la presencia de un gran número de factores de virulencia en las bacterias (toxinas, factores de adherencia, plásmidos, etc.).
2. Análisis molecular de los plásmidos después de su separación electroforética, que permite diferenciar cepas epidémicas.
3. El llamado *fingerprinting*, basado en la extracción de las proteínas de la membrana externa bacteriana y su separación electroforética mediante el SDS-PAGE (sodio-dodecil sulfato poliacrilamida-gel electroforesis), con el propósito de obtener patrones diferenciales.
4. Análisis del ADN cromosomal con endonucleasas de restricción, el cual se ha usado para subtipar cepas bacterianas, con el inconveniente de la obtención de numerosos fragmentos difíciles de comparar entre sí.
5. Análisis del ARN ribosomal (ARNr).
6. Tipaje basado en los patrones de enzimas citoplasmáticas (conocido como electroforesis de multilocus enzimático), que ha sido empleado para analizar la diversidad clonal en bacterias patógenas y otros.

Todos estos métodos han resultado muy útiles en la subtipificación de bacterias, pero ninguno puede catalogarse como el "de elección" para todos estos estudios. Muy pocas veces se han comparado dos o más de estos métodos con la misma cepa.

La similitud del ADN total no proporciona tampoco una definición práctica de género; de ser así, un género pudiera estar compuesto por especies que están fenotípica y genotípicamente relacionadas (50 al 65 % de relación). Existen géneros que sustentan estos criterios, ya que incluyen especies fenotípica y genotípicamente muy similares, pero otros géneros no tienen esa característica. Cuando no están presentes ambas similitudes, el criterio que prevalece es el fenotípico, por razones prácticas obvias, pues para considerar primariamente un grupo bacteriano como género es necesario que incluya especies similares desde el punto de vista bioquímico, susceptibles de ser agrupadas y, a su vez, separadas unas de otras.

La nomenclatura bacteriana utilizada hasta el 1ro de enero de 1980 databa del 1ro de mayo de 1753. Este hecho causaba mucha confusión, dado que debía revisarse en la literatura para tener la certeza de que una nueva especie o género no habían sido propuestos previamente. Las primeras descripciones, por supuesto, se basaban en escasas pruebas bioquímicas, diferentes de las actuales. En el siglo XIX, se propuso una nueva clasificación de especies, pero luego, con el cursar de los años, la mayoría de las cepas de referencia no estaban disponibles o no correspondían exactamente con las características descritas con antelación. Se conoce que una especie en particular pudo llegar a tener 30 o más sinónimos.

A partir del 1ro de enero de 1980 se publicó la Lista Aprobada de Nombres Bacterianos en el *International Journal of Systematic Bacteriology*. Los editores de esta lista decidieron incluir sólo las especies adecuadamente descritas, cuya cepa de referencia estuviera disponible. Por supuesto que esto redujo mucho la confusión pasada, pero podrá generar otros problemas en el futuro.

Es un error común considerar que el advenimiento de las técnicas de hibridización del ADN aplicadas a la taxonomía, ha hecho aumentar explosivamente el número de géneros y especies bacterianas. La lista publicada en 1966 en el *Index Bergeyana* incluía 29 000 nombres. El suplemento publicado en 1981 añadía 5 700 nuevos nombres de especies y alrededor de 700 de géneros. La Lista Aprobada de Nombres Bacterianos publicada en 1980 contenía aproximadamente 290 géneros y 1 693 especies. En 1988 se hicieron adiciones, que llevaron las cifras a 494 géneros (un incremento del 6,6 % por año) y a 2 681 especies (un incremento de 5,6 % por año); sólo una pequeña fracción de los nombres de géneros y especies que existían antes de 1980. Aunque en la actualidad existen pocos sinónimos, casi todos los nombres comunes empleados en bacteriología médica se refieren únicamente a especies. Las especies recién designadas son, por lo general, muy bien estudiadas.

Según el *Código Internacional de Nomenclatura Bacteriana* (Código Bacteriológico), el propósito primordial de la nomenclatura de un taxón (grupo o subdivisión) es proporcio-

nar una manera de referirse a él, o sea, el nombre intenta facilitar la comunicación y garantizar la descripción de un número dado de características. En algunos casos los nombres originales o sinónimos se mantienen (por ejemplo, *Morganella (Proteus) morganii*).

Con la ampliación del espectro de pruebas disponibles con fines taxonómicos, no será sorprendente que tanto el número de especies bacterianas de importancia médica como de otras especies vaya en aumento. Por tanto, los microbiólogos clínicos deberán estar al tanto de estos cambios y de la introducción de nuevos nombres de especies que puedan representar problemas clínicos potenciales.

La clasificación bacteriana más aceptable (particularmente en lo referente a nomenclatura, tipo, cepas, descripciones de especies, así como las pertinentes referencias bibliográficas), se encuentra disponible en el *Manual de Bacteriología Sistemática de Bergey*, que constituye una fuente de referencia de extraordinario valor para los microbiólogos, al igual que otras publicaciones periódicas sobre especies de interés clínico como el *Journal of Clinical Microbiology*, *Systematic and Applied Microbiology*, *International Journal of Medical Microbiology* y otras.

Un microorganismo dado nunca será detectado si no se emplea un medio de cultivo y enriquecimiento apropiado, y si no se aplican métodos adecuados de identificación. Las nuevas técnicas de identificación que aparecen en la literatura deberán ser aplicadas tal cual han sido descritas, sin modificaciones, omisiones o cambios en los reactivos, a menos que estos hayan sido previamente comparados con los originales en ensayos experimentales de laboratorio bien controlados.

RESUMEN

Los bacteriólogos clínicos han aprendido a depender, a los efectos del diagnóstico, de las propiedades de las bacterias que son relativamente fáciles de reconocer, tales como: forma, tamaño, coloración, motilidad, morfología colonial, presencia de cápsula, productos de fermentación, utilización de sustratos, sensibilidad a antimicrobianos, espectro de huéspedes y patrones de enfermedad. Por otra parte, las macromoléculas específicas, detectadas mediante anticuerpos, son útiles no sólo para identificar especies, sino para grupos y tipos dentro de estas especies. Los términos "serovar" (serotipo), "morfovar" o "biovar", son a veces usados para variantes dentro de una misma especie, y son definidos como características serológicas, morfológicas y algunas bioquímicas o fisiológicas especiales. La taxonomía consiste en la clasificación, identificación y nomenclatura de los microorganismos. La nomenclatura es el mecanismo a través del cual se definen y comunican las características de un grupo taxonómico. El propósito de la nomenclatura es brindar un adecuado sistema de comunicación a los microbiólogos, los que, a su vez, deberán estar al tanto de las posibles modificaciones o reubicaciones de las diversas especies de interés. Entre los métodos de clasificación más avanzados se encuentran las sondas de ácidos nucleicos, el análisis molecular de plásmidos, el *fingerprinting*, el análisis del ADN cromosomal, el análisis del ARN ribosomal (ARNr) y el tipaje basado en los patrones de enzimas citoplasmáticas. La clasificación bacteriana más aceptable se encuentra disponible en el *Manual de Bacteriología Sistemática de Bergey*. El empleo tanto de métodos y medios de cultivo, y enriquecimiento adecuados, así como de sistemas de identificación apropiados, es la garantía de un acertado diagnóstico etiológico en bacteriología clínica.

BIBLIOGRAFÍA

- Brenner DJ. Taxonomy, Classification, and Nomenclature of Bacteria. *In*: Balows A, Hausler WJ, Herrman KL *et al.* (eds.). *Manual of Clinical Microbiology*. 5th. ed. Washington: American Society for Microbiology, 1991.
- Davis BD. Evolution of Microbiology and of Microbes. *In*: Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS (eds.). *Microbiology*. 4th. ed. J.B. Lippincott Company, 1990.



Mecanismos de defensa frente a las infecciones bacterianas

Rolando F. Ochoa Azze
Teresita A. Leiva Sánchez

INTRODUCCIÓN

La evolución de una enfermedad infecciosa bacteriana en un individuo involucra toda una secuencia de interacciones entre el microorganismo y el hospedero. Ello incluye la entrada del agente, la invasión y colonización de los tejidos, la evasión del sistema inmune y el daño hístico o alteración funcional ocasionados.

Existen muchos rasgos que caracterizan la inmunidad frente a las bacterias:

1. La defensa contra bacterias está mediada por la inmunidad natural y la adquirida.
2. Diferentes tipos de bacterias estimulan distintas respuestas linfocitarias y diversos mecanismos efectores.
3. La supervivencia y patogenicidad de las bacterias en el hospedero están altamente influidas por su capacidad para evadir o resistir la inmunidad protectora.
4. El daño hístico y la enfermedad resultante de la infección pueden ser causados por la propia respuesta del hospedero frente a las bacterias y sus productos, en lugar del agente por sí mismo.

INMUNIDAD FRENTE A BACTERIAS EXTRACELULARES

Las bacterias extracelulares son capaces de multiplicarse fuera de las células del hospedero, en la sangre, en el tejido conectivo extracelular y en varios espacios hísticos, como las vías respiratoria e intestinal. Estas bacterias incluyen los cocos piógenos (*Staphylococcus*, *Streptococcus*), los cocos gramnegativos (meningococo, gonococo), muchos bacilos gramnegativos (incluyendo *Escherichia coli*, una bacteria entérica) y algunos bacilos grampositivos (particularmente anaerobios, como especies de *Clostridium*).

Las bacterias extracelulares causan enfermedad por dos mecanismos principales:

1. Induciendo inflamación, que da como resultado la destrucción del tejido en el sitio de la infección (por ejemplo, los cocos piógenos).
2. Produciendo toxinas, que poseen variados efectos patológicos. Las exotoxinas son secretadas activamente por las bacterias y las endotoxinas forman parte de su pared celular. En el caso de las bacterias gramnegativas, las endotoxinas se corresponden con los lipopolisacáridos (LPS) de la pared, y son potentes estimuladores de la producción de citoquinas por los macrófagos. Muchas exotoxinas son, en primer lugar, citotóxicas, aunque sus mecanismos están pobremente definidos. Hay, asimismo, muchos otros ejemplos de exotoxinas (toxina diftérica, toxina colérica, neurotoxina tetánica, toxinas de los clostridios de la gangrena), cuyos modos de acción se conocen en detalle.

La respuesta inmune contra las bacterias extracelulares está dirigida, fundamentalmente, a la eliminación de las bacterias y a la neutralización de los efectos de sus toxinas.

INMUNIDAD NATURAL

Las bacterias primero deben atravesar la barrera física y química que representan la piel y las mucosas, en las que se incluye su integridad, el arrastre mecánico, como el producido por los movimientos ciliares del tracto bronquial y el peristaltismo intestinal, el bajo pH de algunas secreciones como las gástricas y vaginales, la producción de lisozima y la competencia con bacterias componentes de la flora normal, entre otros mecanismos.

Teniendo en cuenta que las bacterias extracelulares son rápidamente destruidas por los mecanismos microbicidas de los fagocitos, uno de los principales mecanismos naturales de defensa contra ellas es la fagocitosis por neutrófilos, monocitos y macrófagos hísticos. La resistencia de las bacterias a la fagocitosis y a la destrucción dentro de los macrófagos es un importante determinante de virulencia.

La activación del sistema del complemento, en ausencia de anticuerpos, desempeña también un importante papel en la eliminación de estas bacterias. Las bacterias grampositivas contienen un peptidoglucano en su pared celular, que activa la vía alterna del complemento, promoviendo la formación de la C3 convertasa. Los LPS de la pared de los gramnegativos fueron las primeras sustancias que demostraron capacidad para la activación de la vía alterna del complemento en ausencia de anticuerpos. Las bacterias que expresan manosa en su superficie pueden unirse a proteínas homólogas a C1q; esta unión puede activar el complemento por la vía clásica, sin la participación de anticuerpos. Uno de los resultados de la activación del complemento es la generación de C3b, que actúa como opsonina, facilitando la fagocitosis de las bacterias. Por otra parte, el complejo de ataque a la membrana (CAM) lisa las bacterias y otros productos generados en su activación, participan en la respuesta inflamatoria, mediante el reclutamiento y la activación de los leucocitos.

Las endotoxinas, tales como los LPS, estimulan la producción de citoquinas por los macrófagos y por otras células, por ejemplo, las del endotelio vascular. Estas citoquinas incluyen el factor de necrosis tumoral (TNF), la interleuquina 1 (IL-1), la interleuquina 6 (IL-6) y las quimoquinas. La función principal de las citoquinas derivadas de los macrófagos es estimular la inflamación. Inducen, además, la adhesión de los neutrófilos y monocitos al endotelio vascular en el sitio de la infección, la que es seguida por la migración, acumulación local y activación de las células inflamatorias. El daño hístico adyacente es un efecto patológico colateral de este mecanismo de defensa. Las citoquinas, a su vez, inducen fiebre y estimulan la síntesis de proteínas de fase aguda. Algunas de estas citoquinas pueden, también, estimular los linfocitos T y B, propiciando la amplificación de la respuesta, con la incorporación de los mecanismos inmunes específicos.

La gran cantidad de citoquinas producidas de manera incontrolada puede resultar dañina al organismo y responsable de las manifestaciones clínico-patológicas de las infecciones por bacterias extracelulares. La manifestación más severa inducida por las citoquinas, como consecuencia de una infección por bacterias gramnegativas, es el shock séptico, caracterizado por colapso circulatorio y coagulación intravascular diseminada. Los principales mediadores del shock séptico son la IL-1 y el TNF.

RESPUESTA INMUNE ESPECÍFICA

La inmunidad humoral es la principal respuesta protectora contra bacterias extracelulares. Algunos de los componentes más inmunogénicos de las paredes celulares de las bacterias y de sus cápsulas son polisacáridos, los cuales son prototipos de antígenos timoindpendientes. Estos antígenos estimulan de forma directa las células B, y dan lugar a una fuerte respuesta de IgM, pudiendo producirse, además, otros isotipos de inmunoglobulinas, probablemente como resultado de la producción de citoquinas que promueven el cambio o sustitución entre isotipos de cadenas pesadas. El ejemplo mejor documentado, quizás, es la respuesta inmune humoral contra el polisacárido capsular de neumococo, que está predominantemente caracterizada por la producción de anticuerpos IgG2.

La principal respuesta de células T frente a bacterias extracelulares consiste en la producción de células T cooperadoras CD4⁺, que son estimuladas por inmunógenos proteicos, asociados con moléculas del sistema o complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase II. Como se conoce, los microorganismos extracelulares y los antígenos solubles son fagocitados por las células presentadoras de antígenos (CPAs); los antígenos son procesados y los fragmentos de las proteínas se asocian, principalmente, con las moléculas de MHC clase II. Las CPAs más definidas son los fagocitos mononucleares, linfocitos B, células dendríticas, células de Langerhans de la piel y células endoteliales.

La presentación antigénica de las células B a las células T-CD4⁺ y la liberación de citoquinas estimula tres tipos de mecanismos efectores:

1. Producción de anticuerpos de clase IgG, que opsonizan las bacterias y favorecen la fagocitosis, mediante unión a los receptores Fc- γ de monocitos, macrófagos y neutrófilos. Ambos anticuerpos, IgM e IgG, activan el complemento, generando C3b e iC3b que se unen a los receptores tipos 1 y 3, promoviendo la fagocitosis.
2. Anticuerpos IgM e IgG, que neutralizan las toxinas bacterianas y evitan su unión a las células diana o blanco. Los anticuerpos IgA presentes en varias secreciones (tractos gastrointestinal y respiratorio) son muy importantes para neutralizar las toxinas bacterianas y prevenir la colonización en órganos extraluminales. La IgA tiene poca importancia en la inmunidad humoral sistémica, pero desempeña un papel clave en la inmunidad de la mucosa, debido a que puede ser selectivamente transportada a través de esta y neutralizar diferentes gérmenes y toxinas.
3. Anticuerpos IgM e IgG, que activan el complemento y llevan a la producción del complejo de ataque a la membrana (CAM), de acción microbicida, y a la liberación de productos que son mediadores en la inflamación aguda (C3a, C4a, C5a) y de opsoninas (C3b). Sin embargo, la función lítica del CAM es más importante en algunas bacterias. Por ejemplo, las deficiencias en los últimos componentes del complemento, C5 al C8 (que forman parte del CAM), están asociadas a una alta susceptibilidad a las infecciones por *Neisseria*, pero no a otras infecciones bacterianas.

La función efectora de los linfocitos T-CD4⁺ está mediada por citoquinas que estimulan la secreción de anticuerpos, inducen inflamación local e incrementan la actividad fagocítica y microbicida de los macrófagos. El interferón- γ y el TNF son las principales citoquinas responsables de la activación de los macrófagos y el proceso inflamatorio. Otras citoquinas son importantes para la secreción y el cambio de clase de anticuerpos.

Recientemente, se han descrito algunas toxinas bacterianas que pueden estimular la activación de grandes cantidades de T-CD4⁺. Cualquiera de esas toxinas puede estimular todas las células T en un individuo que expresen un "juego" particular de genes relacionados con los receptores de células T. Dichas toxinas han sido denominadas *superantígenos*. Su importancia radica en la capacidad para estimular la producción de grandes cantidades de células T, con la consecuente cantidad de citoquinas y la subsiguiente aparición de anomalías clínico-patológicas, que pueden semejar un shock séptico.

Una complicación tardía de la respuesta humoral frente a las infecciones bacterianas puede ser la generación de anticuerpos productores de enfermedad por mecanismos de hipersensibilidad. Los ejemplos mejor estudiados son las manifestaciones tardías de infec-

ciones estreptocócicas (fiebre reumática y glomerulonefritis). En el primer caso, ciertos serotipos de estreptococo β -hemolítico inducen la producción de anticuerpos contra la proteína M de la pared de la bacteria. Algunos de estos anticuerpos reaccionan cruzadamente con las proteínas del sarcolema del miocardio y la miosina, conduciendo a la deposición de anticuerpos con la consecuente inflamación (carditis). En el segundo caso, la infección primaria lleva a la formación de inmunocomplejos de antígenos bacterianos y sus anticuerpos específicos. Los complejos se depositan en los glomérulos renales produciendo nefritis. Otras infecciones bacterianas pueden dejar diferentes secuelas. La activación policlonal de linfocitos inducida por las endotoxinas bacterianas y otros superantígenos pueden contribuir también a la producción de autoinmunidad.

EVASIÓN DE LOS MECANISMOS INMUNES

La virulencia de las bacterias extracelulares ha sido relacionada con numerosos mecanismos que favorecen la invasión y colonización de los tejidos. Entre ellos están las propiedades adhesivas de las proteínas de la superficie de las bacterias, los mecanismos antifagocíticos y la inhibición del complemento o la inactivación de sus productos. Por ejemplo, las cápsulas de muchas bacterias gramnegativas y grampositivas contienen residuos de ácido siálico que inhiben la activación del complemento por la vía alternativa. Las bacterias encapsuladas resisten, además, la fagocitosis y son, por tanto, más virulentas que sus homólogas sin cápsula.

Uno de los mecanismos utilizados por las bacterias para evadir la inmunidad específica es la variación genética de sus antígenos de superficie. Estos antígenos, en muchas bacterias como gonococo y *E. coli*, están contenidos en los *pili*, que son estructuras involucradas primariamente en la adhesión bacteriana a la célula hospedera. El antígeno más importante en los *pili* es la proteína llamada pilina, de 35 kDa. Los genes de pilina del gonococo y *E. coli* son capaces de mutar, creando hasta 10^6 combinaciones, cuyos productos proteicos son antigénicamente distintos. Estos mecanismos ayudan a la bacteria a escapar del ataque de los anticuerpos específicos, aunque su principal significación para la bacteria debe ser seleccionar *pili* que sean más adherentes a las células del hospedero, lo que aumenta su virulencia.

INMUNIDAD FRENTE A BACTERIAS INTRACELULARES

Muchas bacterias y hongos, así como todos los virus, sobreviven y se replican dentro de las células del hospedero. Entre las bacterias más patogénicas se encuentran aquellas que resisten la degradación dentro de los macrófagos y son, por tanto, capaces de sobrevivir dentro de estos fagocitos. Dos de las mejor conocidas son las micobacterias y *Listeria monocytogenes*. Teniendo en cuenta que estos microorganismos han sido capaces de hallar un nicho donde se hacen inaccesibles a los anticuerpos circulantes, su eliminación requiere de mecanismos inmunes bien diferentes a los utilizados contra bacterias extracelulares.

INMUNIDAD NATURAL

El principal mecanismo de inmunidad natural contra bacterias intracelulares es la fagocitosis. Sin embargo, las bacterias patógenas intracelulares son relativamente resistentes a la degradación dentro de los fagocitos mononucleares. De modo que, no es sorprendente que usualmente la inmunidad natural sea bastante ineficaz en el control de la colonización y la diseminación de estos microorganismos. La resistencia a la fagocitosis es otra razón por la cual tales bacterias tienden a causar infecciones crónicas, que pueden durar años, provocando recaídas o recrudescimientos, a la vez que son muy difíciles de erradicar.

Las bacterias intracelulares activan también las células "asesinas naturales" (NK) directamente o estimulando la producción de interleuquina 12 (IL-12) por los macrófagos. Las células NK, además de su papel lítico, producen IFN- γ , el cual, a su vez, activa a los macrófagos promoviendo la muerte de las bacterias fagocitadas.

RESPUESTA INMUNE ESPECÍFICA

La principal respuesta inmune protectora contra bacterias intracelulares es la inmunidad mediada por células. Los individuos con deficiencias en la inmunidad mediada por células (como los pacientes con SIDA), son extremadamente susceptibles a las infecciones por microorganismos intracelulares. Esta forma de inmunidad, identificada en los años 50, puede transferirse en animales mediante células linfoides, pero no a través del suero de animales infectados.

La inmunidad mediada por células consiste en dos tipos de reacciones:

1. Activación de los macrófagos por las citoquinas producidas por las células T, sobre todo IFN- γ , con la consiguiente muerte de los microorganismos fagocitados.
2. Lisis de las células infectadas por los linfocitos T citolíticos CD8⁺.

Los inmunógenos proteicos de las bacterias intracelulares estimulan los linfocitos T, tanto CD4⁺ como CD8⁺. Los CD4⁺ responden a los antígenos presentados por las células presentadoras en el contexto del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II. Un ejemplo de estos antígenos es el derivado proteico purificado (PPD) de *Mycobacterium tuberculosis*. Estos microorganismos son potentes inductores de la diferenciación de los linfocitos T cooperadores CD4⁺ en el fenotipo T_H1, debido a que estimulan la producción de IFN- γ por las células NK, así como la producción de IL-12 por los macrófagos. Las células T_H1 secretan IFN- γ , el cual activa los macrófagos estimulando la lisis dependiente de oxígeno y enzimas que matan a las bacterias fagocitadas. El IFN- γ estimula también el cambio de isotipo de anticuerpos que activan el complemento y opsonizan bacterias para la fagocitosis, de modo que ayuda a las funciones efectoras de los macrófagos. Los linfocitos T_H1 también producen factor de necrosis tumoral (TNF), que induce inflamación local. La importancia de estas citoquinas en la inmunidad frente a bacterias intracelulares ha sido demostrada en varios modelos experimentales.

Si la bacteria sobrevive dentro de las células y libera sus antígenos en el citoplasma, estos son procesados y presentados en asociación con moléculas clase I del sistema o complejo mayor de histocompatibilidad a las poblaciones linfocitarias citolíticas CD8⁺. Estos linfocitos se activan, lisan las células infectadas y producen interferón γ .

Los dos mecanismos efectoras de la inmunidad mediada por células (activación macrófagica y citotoxicidad linfocitaria) se complementan entre sí y actúan juntos. Se ha demostrado que se requiere de los linfocitos T-CD4⁺ y T-CD8⁺ para eliminar la infección. Por ejemplo, *L. monocytogenes* produce una proteína llamada hemolisina, que le permite escapar de los fagolisosomas hacia el citoplasma, donde se protege de los mecanismos microbicidas dependientes del oxígeno; sin embargo, las células T-CD8⁺ son capaces de matar cualquier macrófago que aloje esta bacteria en su citoplasma.

La activación de los macrófagos, que ocurre como respuesta a la presencia de bacterias intracelulares, es también capaz de causar daño hístico. Este se manifiesta como reacciones de hipersensibilidad de tipo retardada contra las proteínas del microorganismo. Las bacterias intracelulares han evolucionado hacia la resistencia a la fagocitosis, y a menudo persisten largos períodos dentro de los fagocitos, provocando la estimulación antigénica crónica y la activación de las células T y macrófagos. Esto puede resultar en la formación de granulomas alrededor de los microorganismos. La lesión histológica típica de bacterias y hongos intracelulares es la inflamación granulomatosa. Este tipo de reacción inflamatoria puede servir para localizar y prevenir la diseminación de los microorganismos, aunque está también asociada con daño funcional severo, debido a necrosis y fibrosis de los tejidos. De este modo, la respuesta inmune del hospedero es la principal causa del daño hístico y la enfermedad en las infecciones por bacterias intracelulares. La inmunidad protectora y la hipersensibilidad patológica pueden coexistir, ya que son manifestaciones de una misma respuesta inmune específica frente a determinados patógenos.

Las diferencias individuales en los patrones de respuesta inmune frente a bacterias intracelulares son determinantes, tanto en la progresión de la enfermedad como en el desenlace clínico. Un ejemplo de ello es la lepra, causada por el *Mycobacterium leprae*. Existen dos formas polares de la enfermedad, aunque muchos pacientes muestran formas intermedias

menos claras. En el caso de la lepra lepromatosa, los pacientes tienen altos títulos de anticuerpos específicos, pero una respuesta celular débil a los antígenos bacterianos. Se detectan altos niveles de IL-4 e IL-10, patrón típico del fenotipo T_H2 , citoquinas que ejercen efectos inhibitorios sobre los macrófagos. La proliferación bacteriana y la inadecuada activación de los macrófagos dan como resultado la aparición de lesiones destructivas en la piel, en los huesos subyacentes y en los nervios periféricos. En contraste, los pacientes con la forma tuberculoide de la enfermedad muestran una fuerte respuesta de tipo celular y una débil respuesta de anticuerpos. La producción de IFN- γ e IL-12 sugieren la activación del fenotipo T_H1 .

La aplicación intradérmica de IFN- γ produce efectos beneficiosos sobre las lesiones de la piel en la lepra lepromatosa.

EVASIÓN DE LOS MECANISMOS INMUNES

Un importante mecanismo de supervivencia en las bacterias intracelulares es su capacidad para resistir su destrucción dentro de los fagocitos. Las micobacterias lo logran impidiendo la fusión del fagolisosoma, quizá interfiriendo el movimiento del lisosoma. El glicolípido fenólico de *Mycobacterium leprae* funciona como un inhibidor de los mecanismos líticos dependientes del oxígeno. La hemolisina de algunas bacterias como *Listeria monocytogenes* bloquea la destrucción bacteriana dentro de los macrófagos y puede también inhibir la presentación de antígenos por parte de los macrófagos infectados. El resultado de la infección por estas bacterias dependerá en gran medida de los mecanismos microbicidas de los macrófagos y de la resistencia de estas bacterias a su destrucción por ellos.

RESUMEN

La defensa contra bacterias está mediada por la inmunidad natural y la adquirida. Diferentes tipos de bacterias estimulan distintas respuestas linfocitarias y diversos mecanismos efectores. La supervivencia y patogenicidad de las bacterias en el hospedero están altamente influidas por su capacidad para evadir o resistir la inmunidad protectora. El daño hístico y la enfermedad resultante de la infección pueden ser causados por la propia respuesta del hospedero frente a las bacterias y sus productos, en lugar del agente por sí mismo.

La principal respuesta inmune protectora contra las bacterias extracelulares consiste en la producción de anticuerpos específicos, que opsonizan la bacteria para facilitar la fagocitosis y activan el sistema del complemento. Las toxinas producidas por estas bacterias son también neutralizadas y eliminadas por anticuerpos. Algunas toxinas bacterianas son poderosos inductores de la producción de citoquinas, que pueden estar relacionadas con cuadros patológicos sistémicos asociados con infecciones diseminadas.

Las bacterias intracelulares son capaces de sobrevivir y replicarse dentro de las células del hospedero, incluyendo los fagocitos, debido a que han desarrollado mecanismos para resistir su degradación. La inmunidad contra estas bacterias es, principalmente, celular y consiste de células T-CD4⁺ que activan los macrófagos y de linfocitos T-CD8⁺ citolíticos. La respuesta patológica característica a la infección por bacterias intracelulares es la inflamación granulomatosa.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS (eds). Chapter sixteen. Immunity to Microbes. *In: Cellular and Molecular Immunology*. Philadelphia: WB Saunders, 1994:319-36.
- Fainboim L, Satz ML(eds). Capítulo 1. Conceptos generales de inmunidad. *En: Introducción a la Inmunología Humana*. Buenos Aires, 1995:1-14.
- _____. Capítulo 11. Células efectoras de la respuesta inmune. *En: Introducción a la Inmunología Humana*. Buenos Aires, 1995:185-222.
- _____. Capítulo 13. Inmunidad frente a agentes microbianos. *En: Introducción a la Inmunología Humana*. Buenos Aires, 1995:233-48.
- Young D. Vaccine Challenges: Tuberculosis. *In: Mérieux Foundation (eds.). Proceedings of the Advanced Vaccinology Course. Session VIII Challenges for Control of Specific Diseases. France:Annecy 2000.*
- Poolman J. *Neisseria meningitidis* B. Current Medical Need and Rationales for Prevention of Meningitis and Meningococemia Via Vaccination. *In: Mérieux Foundation (eds.). Proceedings of the Advanced Vaccinology Course. Session VIII Challenges for Control of Specific Diseases. France:Annecy 2000.*



ESTAFILOCOCOS

Alicia Ma. Martínez Izquierdo
Julián I. Pérez Amarillo

INTRODUCCIÓN

Según el *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* se incluye el género *Staphylococcus* junto con los micrococcos en la familia *Micrococcaceae*.

Los estafilococos son células esféricas grampositivas con un diámetro de 0,5 a 1,5 μm , que se agrupan irregularmente en forma de racimos de uva. Ogston es quien introduce el nombre de *Staphylococcus* (*Staphylé*, que significa racimos de uva). Rosenbach, sobre una base taxonómica, es quien describe por primera vez este género. Los estafilococos son no móviles, no esporulados, usualmente catalasa positiva y no capsulados o tienen limitada la formación de la cápsula. La mayoría de las especies son anaerobios facultativos, con excepción del *S. saccharolyticus* y *S. aureus* spp. *anaerobius* que crecen más rápido bajo condiciones de anaerobiosis; estos organismos excepcionales son también catalasa negativa. Los estafilococos patógenos hemolizan la sangre, coagulan el plasma y producen enzimas y toxinas extracelulares. Un tipo común de envenenamiento alimentario es el producido por una enterotoxina estafilocócica termoestable. Los estafilococos desarrollan con rapidez resistencia a muchos agentes antimicrobianos, por lo que resulta difícil su tratamiento.

El género *Staphylococcus* tiene, por lo menos, 30 especies; siete subespecies han sido descritas, de las cuales a tres se les ha dado nombre. Esas subespecies son: *S. aureus* subespecie *anaerobius*; *S. capitis* subespecie *urealyticus*; *S. cohnii* subespecie *urealyticum*; *S. cohnii* subespecie 3; *S. haemolyticus* subespecie 2; *S. warneri* subespecie 2 y *S. auricularis* subespecie 2. El nombre de la subespecie está dado sobre bases de las simples características fenotípicas. Las tres especies principales de importancia clínica son: *S. aureus*, *S. epidermidis* y *S. saprophyticus*.

La mayoría de las cepas de estafilococos crecen en presencia de un 10 % de cloro-sodio y a temperatura de 18 a 40°C, el metabolismo es respiratorio y fermentativo. Los carbohidratos y aminoácidos son utilizados como fuente de carbono y energía. Los estafilococos son susceptibles a la lisis por lisostafina, pero resistentes a la lisis bajo condiciones estándar.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Son células esféricas, con un diámetro que va de 0,5 a 1,5 μm , grampositivas y agrupadas en racimos. En cultivos líquidos se encuentran cocos aislados, en pares, tétradas y cadenas cortas (de tres a cuatro células). Los cocos jóvenes se tiñen intensamente con coloración de Gram; al envejecer, muchas células se vuelven gramnegativas.

Cultivo. Los estafilococos proliferan fácilmente en la mayoría de los medios bacteriológicos bajo condiciones aerobias o microaerófilas a temperatura de 37°C, formando mejor el pigmento a temperatura ambiente (20 a 25°C). Las colonias desarrolladas en medios sólidos (agar-sangre de carnero), en un período de 18 a 24 horas tienen un diámetro de 1 a 3 mm y de 3 a 10 mm en incubación prolongada durante 5 días; las mismas son redondas, lisas, elevadas y resplandecientes.

Staphylococcus aureus suele formar colonias de color gris a amarillo dorado intenso. Las colonias de *S. epidermidis* casi siempre son de color gris a blanco en el aislamiento primario; muchas colonias desarrollan pigmentos con la incubación prolongada. No se produce pigmento en condiciones de anaerobiosis. *S. epidermidis* era conocido anteriormente como *S. albus* debido a sus colonias blancas; no obstante, basado en las pruebas de fermentación de manitol y coagulasa, algunas cepas blancas pueden ser clasificadas como *S. aureus* a pesar de la falta de pigmento amarillo. Ocurren varios grados de hemólisis por la acción de *S. aureus* y, en ocasiones, de otras especies. Las especies de *Peptococcus*, que son cocos anaerobios, poseen una morfología parecida a la de *Staphylococcus*.

Características del crecimiento. Los estafilococos producen catalasa, que los distingue de los estreptococos; fermentan con lentitud muchos carbohidratos y elaboran ácido láctico, pero no gas. Su actividad proteolítica varía de una cepa a otra. Los microorganismos de esta especie que son patógenos producen muchas sustancias intracelulares que se describen más adelante.

Estos microorganismos son relativamente resistentes a la desecación, al calor (soportan 50 °C durante 30 min) y al cloruro de sodio al 9 %, pero los inhiben con facilidad ciertas sustancias, por ejemplo, el hexaclorofeno en solución al 3 %.

Los estafilococos son variablemente sensibles a muchos agentes antimicrobianos; su resistencia corresponde a varias clases:

1. Es común la producción de β -lactamasa; esta se encuentra bajo el control de plásmidos, convirtiendo a estos microorganismos resistentes a las penicilinas (penicilina G, ampicilina, tetraciclina y agentes semejantes); los plásmidos se transmiten por transducción y quizá también por conjugación.
2. La resistencia a la nafcilina (lo mismo que a la metilicina y a la oxacilina) es independiente de la producción de β -lactamasa. Los agentes de la resistencia se relacionan con la falta de ciertas proteínas fijadoras de penicilina o con la inaccesibilidad a las mismas en los microorganismos.
3. El término "tolerancia" implica que los estafilococos experimentan inhibición por la acción del fármaco, pero este no los mata; es decir, hay una diferencia muy grande entre las concentraciones inhibitorias mínimas y mortal mínima de cada agente antimicrobiano. A veces la tolerancia se atribuye a la falta de activación de enzimas autolíticas en la pared celular.
4. Los plásmidos también pueden presentar genes para la resistencia a la tetraciclina, eritromicina, aminoglucósidos y otros fármacos. Los estafilococos conservan su sensibilidad a la vancomicina.

Variaciones. Un cultivo de estafilococos contiene algunas bacterias que difieren del grueso de la población en su expresión de características coloniales (tamaño de la colonia, pigmento, hemólisis), en la elaboración de enzimas, en la resistencia a los fármacos y en la patogenicidad.

In vitro, la expresión de estas características se ve influida por las condiciones de crecimiento; cuando se incubaba *S. aureus*, resistente a la nafcilina a 37 °C sobre agar-sangre, uno de cada 10^7 microorganismos expresa resistencia a este antibiótico; cuando se incubaba a 30 °C en agar que contiene de un 2 a un 5 % de cloruro de sodio, uno de cada 10^3 microorganismos manifiesta esta resistencia.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Los estafilococos contienen polisacáridos y proteínas antigénicas, lo mismo que otras sustancias importantes de la estructura de la pared.

El peptidoglucano, un polímero polisacárido que comprende subunidades enlazadas, es el constituyente del exoesqueleto de la pared celular. Es importante en la patogenia de las infecciones, desencadenando la producción de interleuquina-1 (pirógeno endógeno) y anticuerpos opsónicos por medio de los monocitos. Puede ser un agente quimioatrayente de los leucocitos polimorfonucleares, tiene actividad de tipo endotoxínica, produce el fenómeno de Shwartzman localizado y activa el complemento.

Se encuentran enlazados al peptidoglucano, ácidos teicoicos que son antígenos específicos de especies de *S. aureus* y *S. epidermidis* (polisacáridos A y B respectivamente); estos son polímeros de glicerol fosfato de ribitol y pueden ser antigénicos formando el complejo peptidoglucano-ácido teicoico; este constituye el sitio de fijación del bacteriófago. A este nivel existen antígenos de especie, cuyo determinante antigénico es N-acetilglucosamina enlazado con fosfato de ribitol. En los pacientes con endocarditis bacteriana activa por *S. aureus*, suelen encontrarse anticuerpos antiteicoicos perceptibles por difusión en gel.

La proteína A es un componente de la pared celular de muchas cepas de *S. aureus*, la cual se fija a la porción Fc de las moléculas de inmunoglobulina G, salvo la IgG 3. La porción Fab de la IgG se fija a la proteína A, que está en libertad de combinarse con un antígeno específico. Es por ello que la proteína A se ha convertido en un importante reactivo en inmunología y tecnología diagnóstica.

Algunas cepas de *S. aureus* poseen cápsulas que inhiben la fagocitosis de los leucocitos polimorfonucleares, a menos que estén presentes anticuerpos específicos. La mayor parte de las cepas de *S. aureus* tienen coagulasa o factor coagulante sobre la superficie de la pared celular; la coagulasa se fija de manera no enzimática con el fibrinógeno y de esta forma produce agregación bacteriana.

TOXINAS Y ENZIMAS

Los estafilococos pueden producir enfermedades tanto por su capacidad para multiplicarse y extenderse en los tejidos, como por la producción de muchas sustancias extracelulares; algunas de estas sustancias son enzimas, otras se denominan toxinas, aunque pueden funcionar como las anteriores. Muchas de las toxinas se encuentran bajo el control genético de los plásmidos, otras están incluidas bajo el control cromosómico o extracromosómico. En ciertos casos no se ha podido definir el mecanismo de control genético; entre toxinas y enzimas citamos:

Catalasa. Los estafilococos producen catalasa, la cual es una enzima que descompone el peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua. Químicamente la catalasa es una hemoproteína de estructura similar a la hemoglobina, excepto que los cuatro átomos de hierro están en estado oxidativo (Fe^{+++}) en lugar de reducido (Fe^{++}). La prueba de la catalasa diferencia a los estafilococos que son catalasa positiva de los estreptococos que son catalasa negativa.

Coagulasa. El *S. aureus* produce coagulasa, que es una enzima proteolítica de composición química desconocida con actividad semejante a la protrombina, capaz de transformar el fibrinógeno en fibrina, lo cual provoca la formación de un coágulo visible en un sistema analítico adecuado, y coagula el plasma oxalatado o citratado en presencia de un factor contenido en muchos sueros. La acción de la coagulasa supera la cascada normal de la coagulación. La coagulasa puede depositar fibrina sobre la superficie de los estafilococos, con lo cual es capaz de interferir en su ingestión por células fagocíticas y su destrucción dentro de dichas células. Se considera que la producción de coagulasa es sinónimo de potencial invasor patógeno.

Otras enzimas. Hialuronidasa o factor de extensión; estafilocinasa, que da por resultado la fibrinólisis, la cual actúa más lentamente que la estreptocinasa; proteinasa; lipasa enzima, la cual hidroliza los lípidos, lo que le permite colonizar los sitios sebáceos de la piel; β -lactamasas; fosfatasa alcalina; pirrolidonil arilamidasa; ornitina descarboxilasa; termonucleasa y β -galactosidasa.

Exotoxinas. Entre estas hallamos varias enzimas que son mortales para los animales tras su inyección, ya que producen necrosis de la piel y contienen hidrolisinas solubles, las cuales pueden separarse por electroforesis. Se conocen cuatro hemolisinas: alfa (α), beta (β), gamma (γ), y delta (δ).

La hemolisina α es una proteína heteróloga que puede producir lisis de los eritrocitos y lesionar las plaquetas; es, probablemente, la que identifica al factor dermonecrótico de la exotoxina. Se plantea, además, que tiene una acción muy poderosa sobre el músculo liso vascular.

La hemolisina β degrada la esfingomielina y es tóxica para muchas clases de células e, incluso para los eritrocitos humanos.

Estas toxinas son antigénicamente distintas y no guardan relación con las hemolisinas estreptocócicas.

Leucocidina. La leucocidina del *S. aureus* es capaz de lisar leucocitos polimorfo-nucleares y macrófagos, tanto humanos como de conejos. Su actividad lítica se atribuye a una alteración de la bomba sodio-potasio seguida de una serie de elementos secundarios, incluyendo un aumento de la permeabilidad a cationes, secreción de proteínas y acumulación de calcio.

Toxina exfoliativa (conocida también como toxina epidermolítica). Esta toxina del *S. aureus* está constituida, por lo menos, por dos proteínas que producen la descamación generalizada del síndrome estafilocócico de piel escaldada. Hay anticuerpos específicos que protegen al sujeto contra la acción exfoliativa de la toxina.

Dicha toxina divide la capa del estrato granuloso por desdoblamiento de los dermosomas que unen a las células de esta capa. La toxina es elaborada por el fago grupo II del *S. aureus*; esta producción puede ser mediada por plásmidos o por cromosomas.

Toxina del choque tóxico. La mayor parte de las cepas de *S. aureus* aisladas de pacientes con síndrome de choque tóxico, producen una toxina llamada toxina 1, del síndrome de choque tóxico (TSST-1, *Toxic Shock Syndrome Toxin 1*). La TSST-1 es un superantígeno prototípico que promueve las manifestaciones diversas del síndrome de choque tóxico. En el ser humano, la toxina se asocia con fiebre elevada, shock, vómitos, diarreas, trombocitopenia, insuficiencia renal y hepática, afecciones de aparatos y sistemas múltiples, incluyendo un exantema descamativo en la palma de las manos y planta de los pies. Este complejo sintomático es atribuible a una infección local con organismos productores de TSST-1. Un 80 % del síndrome de choque tóxico se asocia con la menstruación y el uso de tampones; un 20 % de los casos ocurre junto a infecciones posquirúrgicas y otros tipos de infecciones locales (cutáneas, óseas, pulmonares).

Enterotoxinas. Existen, por lo menos, seis toxinas solubles designadas con letras de la A a la F, producidas por casi el 50 % de las cepas de *S. aureus*. Las enterotoxinas son termoestables (soportan ebullición durante 30 min) y resisten la acción de las enzimas intestinales.

Las enterotoxinas de *S. aureus* son causa importante de envenenamiento alimentario, sobre todo cuando se degradan proteínas o carbohidratos.

Quizá el gen de la producción de enterotoxinas se encuentre sobre el cromosoma, pero puede haber un plásmido que lleve a la proteína y regule la producción activa de esta toxina.

La ingestión de 25 μ g de enterotoxina B por el hombre y los macacos provoca, en un período de 2 a 6 horas, un cuadro caracterizado por vómitos y diarreas. El corto período de incubación y la ausencia de fiebre lo diferencian del envenenamiento alimentario por *Clostridium* y *Salmonella*. Probablemente el efecto emético de la enterotoxina sea el resultado de la estimulación del Sistema Nervioso Central, una vez que la toxina ha actuado sobre los receptores neuronales del intestino. Las enterotoxinas pueden ser investigadas mediante pruebas de precipitación (difusión en gel).

PATOGENIA

Los estafilococos, en particular *S. epidermidis*, son miembros de la flora normal de la piel, las vías respiratorias y gastrointestinales del hombre. Del 40 al 50 % de los seres humanos son portadores nasales del *S. aureus*. Los estafilococos se encuentran también con regularidad en las ropas personales, las ropas de camas y otros fomites de los ambientes humanos.

La capacidad patógena de una cepa determinada de *S. aureus* está dada por mecanismos y factores patogénicos que incluyen la presencia de cápsula, la cual inhibe la fagocitosis (algunas cepas de *S. aureus*). La producción de enzimas y toxinas permite su establecimiento, multiplicación y propagación a otros órganos y sistemas, así como la colonización de sitios específicos del hospedero y la elaboración de *slime*, el cual es un glicoconjugado extracelular producido por *S. aureus* y ciertas cepas de estafilococos coagulasa negativa, que desempeña en estos últimos un importante papel en la ocurrencia de enfermedades.

El *slime* inhibe la quimiotaxis de los neutrófilos y la fagocitosis, e inhibe la actividad antimicrobiana de los glicopéptidos antimicrobianos como vancomicina y tercoplanin. Además, acarrea efectos sobre la función inmunitaria, sugiriéndose que este interfiere en la activación y producción de linfocinas o células T auxiliaadoras, las cuales son necesarias para la estimulación de otras células del sistema inmune.

PATOLOGÍA

La lesión típica ocasionada por *S. aureus* es el furúnculo o cualquier otro absceso localizado; dicho microorganismo establecido en un folículo piloso, causa necrosis hística (factor dermonecrótico). Se produce coagulasa, que coagula a la fibrina alrededor de la lesión y dentro de los linfáticos, y da por resultado la formación de una pared que limita el proceso y queda reforzada por la acumulación de células inflamatorias y más tarde tejido fibrótico. En el centro de la lesión ocurre licuefacción del tejido necrótico (fomentada por la hipersensibilidad retardada), y el absceso hace punta en dirección de la menor resistencia. El drenaje del tejido necrótico licuado va seguido de llenado lento de la cavidad por tejido de granulación y, por último, cicatrización.

La supuración focal (absceso) es típica de la infección estafilocócica. Desde cualquier foco, los microorganismos pueden extenderse por los linfáticos y la sangre hacia otras partes del cuerpo. Un aspecto común de esta diseminación es la supuración dentro de las venas acompañada por trombosis. En casos de osteomielitis, el foco primario de crecimiento de *S. aureus* es de manera típica, un vaso sanguíneo terminal de la metafisis de un hueso largo donde produce necrosis ósea y supuración crónica.

S. aureus puede ocasionar también neumonía, meningitis, empiema, endocarditis y sepsis con supuración en cualquier órgano. Los estafilococos de baja invasividad participan en muchas infecciones cutáneas (por ejemplo: el acné, el impétigo). Los cocos anaerobios (*Peptococcus*) participan en las infecciones anaerobias mixtas.

Los estafilococos producen enfermedades por la elaboración de toxinas e infección invasora manifiesta. El síndrome de piel escaldada se debe a la producción de toxinas exfoliativas, mientras el síndrome de choque tóxico está relacionado con el síndrome de choque tóxico por toxina 1 (TSST-1).

Staphylococcus epidermidis pocas veces origina supuración, pero puede infectar prótesis ortopédicas o cardiovasculares, así como causar enfermedades en personas con afectación inmunitaria. El *S. saprophyticus* produce infecciones de las vías urinarias en mujeres jóvenes.

DATOS CLÍNICOS

Las lesiones de piel causadas por *S. aureus* son las infecciones humanas más comunes por este agente; estas incluyen: foliculitis, furúnculos, carbunco, celulitis, impétigo, síndrome de piel escaldada e infección de heridas posoperatorias.

Un desorden adquirido comúnmente lo constituye el envenenamiento alimentario originado por la toxina termoestable elaborada por el *S. aureus* en los alimentos (carbohidratos y proteínas), causante de vómitos y diarreas tras un período de incubación breve de 2 a 6 horas, con rápida convalecencia y sin fiebre.

Otros procesos graves como la bacteriemia, endocarditis, meningitis, neumonía, pioartritis y osteomielitis pueden aparecer en infecciones tanto adquiridas en el hospital como en la comunidad.

Desde finales de la década del 50 y comienzos de la década del 60, *S. aureus* ha causado morbilidad y mortalidad en pacientes hospitalizados como patógeno nosocomial. El uso de penicilinas resistentes y penicilinas semisintéticas en estos años ha condicionado una adecuada terapéutica en las infecciones por *S. aureus*. Sin embargo, las cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina (MRSA) han emergido como un problema clínico epidemiológico en los hospitales desde la década de los 80. Sin embargo, las MRSA han sido aisladas en pacientes extremadamente enfermos, en salas de terapia de los hospitales, en pacientes de hospitales en pequeñas comunidades y salas de rehabilitación; la mayoría de esas cepas son resistentes a los agentes antimicrobianos comunes, incluyendo macrólidos, aminoglucósidos, β -lactámicos, tetraciclinas y cloranfenicol. Las serias infecciones causadas por MRSA han sido tratadas adecuadamente con otro tipo de antibiótico: la vancomicina.

Una enfermedad adquirida en la comunidad, de consecuencia potencialmente seria, es el síndrome de choque tóxico atribuido a *S. aureus*, el cual se observa en un 80 % de mujeres jóvenes en edad menstrual que utilizan tampones absorbentes durante varios meses. El síndrome de choque tóxico se manifiesta por iniciación súbita de fiebre alta, vómitos, diarrea, mialgias, un exantema escarliforme e hipotensión con insuficiencia cardíaca y renal en los casos más graves. Sin embargo, la toxina 1 del síndrome de choque tóxico (TSST-1) producida por *S. aureus* está presente en otros sitios fuera del área genital, en mujeres que no menstrúan y en hombres.

Los estafilococos coagulasa negativa (CNS) son un componente importante de nuestra microflora, específicamente de la piel; estos microorganismos están considerados saprofiticos o de baja patogenicidad para los humanos. Sin embargo, varias especies de CNS se están reportando como importantes patógenos oportunistas en humanos, especialmente en pacientes sometidos a procedimientos médicos invasivos e instrumentados.

Los CNS se aíslan con gran frecuencia en los servicios de oncología y neonatología en pacientes con sepsis nosocomiales. El *S. epidermidis* ha sido aislado en un 74 a 92 % en bacteriemias intrahospitalarias; causa infecciones cardíacas en pacientes después de una sustitución vascular, cirugía cardiovascular y cardiotorax; estas infecciones incluyen: infecciones de los marcapasos, infecciones de las válvulas artificiales, endocarditis asociadas a prótesis valvular y prolapso de la válvula mitral.

Staphylococcus epidermidis es un agente primario en las peritonitis durante la diálisis peritoneal ambulatoria y un agente común de infecciones urinarias tales como: cistitis, uretritis y pielonefritis.

Las cepas de CNS aisladas de hemocultivos de pacientes hospitalizados muestran una resistencia por encima del 56 %. Las infecciones nosocomiales por CNS resistentes a la meticilina (MRSE) constituyen un problema clínico en pacientes con prótesis de válvulas cardíacas, utilizándose en estos casos una terapéutica combinada de vancomicina con rifampicina o aminoglucósidos.

Otro CNS de importancia clínica es el *S. haemolyticus*, el cual ha sido implicado en endocarditis de válvulas naturales, en septicemias, peritonitis, infecciones del tracto urinario y de heridas.

Dos nuevas especies del CNS han sido descritas: *S. lugdunensis* y *S. schleiferi*, de gran importancia como patógenos oportunistas, colonizando los catéteres y drenajes. *S. lugdunensis* ha sido implicado en serias infecciones tales como: endocarditis de válvulas naturales y artificiales, septicemia con shock, abscesos cerebrales, infecciones de tipo profundas, osteítis, osteoartritis crónica, infecciones de piel y de heridas. Muchos de estos pacientes tienen factores predisponentes a la infección, entre ellos: diabetes mellitus, cirugía o traumas, fallo renal, cáncer, SIDA, eczema o psoriasis. *S. schleiferi* aparece con menos frecuencia que el anterior en el ambiente respiratorio y en las infecciones humanas; ha sido aislado de empiema cerebral, infecciones de heridas, bacteriemia, drenaje craneal y catéter yugular.

Staphylococcus saprophyticus es una causa común de infecciones del tracto urinario en mujeres jóvenes sexualmente activas; es un agente de uretritis no gonocócica, prostatitis, infecciones de heridas y septicemia.

Otras especies de CNS tales como: *S. hominis*, *S. warneri*, *S. simulans*, *S. cohnii*, *S. saccharolyticus*, *S. capitis* y *S. xylosus*, tienen baja incidencia en infecciones humanas. *S. warneri* ha sido reportado como agente causal de osteomielitis vertebral e infecciones del tracto urinario en mujeres y hombres.

Distintas especies de estafilococos coagulasa positiva como *S. intermedius* y *S. hycus* son de importancia en medicina veterinaria. Estas especies y *S. aureus* son patógenos oportunistas en animales.

PRUEBAS DIAGNOSTICAS DE LABORATORIO.

Muestras. Las muestras dependen de la localización del proceso; son útiles el pus de absceso, los hisopados de heridas, la secreción endotraqueal y la sangre para hemocultivo, entre otros.

Frotis. Se realiza frotis de la muestra y coloración de Gram; se observan cocos grampositivos agrupados en racimos irregulares.

Cultivo. Las muestras deben ser sembradas en placas de agar-sangre, agar infusión cerebro-orazón, agar-soya-tripticosa o P-agar; deben incubarse durante 18 a 24 horas a temperatura entre 34 y 37 °C, y se obtienen colonias circulares, lisas, elevadas y resplandecientes con un diámetro de 1 a 3 mm. Forman pigmentos a temperatura ambiente (20 a 25 °C), de color amarillo dorado en *S. aureus* y blanco en *S. epidermidis*. *S. aureus* produce hemólisis β en placas de agar-sangre.

Existen medios selectivos que inhiben el crecimiento de microorganismos gramnegativos y de otros cocos grampositivos, por ejemplo:

1. Schleifer-Kramer agar.
2. Agar manitol salado.
3. Agar CNA Columbia.
4. Agar lipasa manitol salado.
5. Agar feniletíl alcohol.

Existe una variedad de técnicas que pueden ser utilizadas como marcadores epidemiológicos para la identificación y diferenciación de cepas; entre las que citamos:

1. La morfología colonial.
2. Las pruebas fisiológicas o reacciones bioquímicas: estas incluyen no sólo la actividad enzimática (catalasa, coagulasa, fosfatasa alcalina; ureasa; β -glucuronidasa; arginina dihidrolasa; esterasa; nitrato reductasa, pirrolidónil arilamidasa; lipasa; proteasa; hemolisina), sino también la determinación de la producción de ácido a partir de varios carbohidratos (L-lactosa, maltosa, D-turanosa, D-manitol, D-trehalosa, D-melozitosa, D-manosa, sacarosa, D-ribosa, D-xilosa, L-arabinosa).

Dada la importancia de las pruebas de catalasa y coagulasa en el diagnóstico de los estafilococos, haremos énfasis en ellas:

Prueba de la catalasa. Se lleva a cabo en portaobjeto o en tubos.

Prueba en portaobjeto: con una aguja de punción o un palillo aplicador con la punta aguzada, se transfieren células del centro de una colonia a la superficie de un portaobjeto. Se añaden una o dos gotas de peróxido de hidrógeno al 3 %: si la prueba es positiva, aparecen gas, burbujas o efervescencia. Se utiliza para diferenciar estafilococos (catalasa positiva) de estreptococos (catalasa negativa).

Prueba de la coagulasa. La coagulasa está presente en dos formas: libre y fija, cada una de las cuales posee diferentes propiedades que requieren del uso de técnicas separadas. *Coagulasa fija* (prueba en portaobjeto): la coagulasa fija, conocida como factor de aglutinación, está unida a la pared celular bacteriana y no se halla presente en los filtros de cultivos. Los hilos de fibrina formados entre las células bacterianas suspendidas en el plasma (fibrinógeno) provocan aglutinación, indicada por la presencia de agregado visible en el portaobjeto. La actividad de la coagulasa fija no es inhibida por los anticuerpos formados por la coagulasa libre.

Coagulasa libre (prueba en tubos): la coagulasa libre es una sustancia semejante a la trombina, que se encuentra presente en los filtros de cultivos; cuando una suspensión de bacterias se mezcla en partes iguales con una pequeña cantidad de plasma en un tubo de ensayo, se forma un coágulo visible como consecuencia de la utilización de los factores de coagulación del plasma, de manera similar a cuando se añade trombina.

Método: se mezcla plasma de conejo (o humano) citratado y diluido (1:5), con un volumen igual de caldo de cultivo de la cepa a estudiar y se incuba a 37°C. Se incluye como testigo un tubo con plasma, mezclado con caldo estéril; si se forma un coágulo en un plazo de 1 a 4 horas, la prueba será positiva.

3. La susceptibilidad a los patrones antimicrobianos (antibiogramas): deben practicarse con regularidad pruebas de susceptibilidad mediante microdilución en caldos (concentración mínima inhibitoria) o difusión en disco (Kirby-Bauer), a las cepas de estafilococos aisladas de infecciones clínicamente significativas.

Se conoce que aproximadamente el 85 % de *S. aureus* es resistente a la penicilina G, lo cual está mediado por la producción de enzima penicilinasas, una β -lactamasa que inactiva al antibiótico antes de que cause daño irreversible en la célula bacteriana. La capacidad de producir penicilinasas está determinada por la presencia de un plásmido.

La meticilina y otras penicilinas resistentes a la β -lactamasa son usadas en el tratamiento contra *S. aureus*. Sin embargo, en los últimos años se ha visto un incremento en el aislamiento de cepas resistentes a estos antibióticos; es decir, a los β -lactámicos. Las cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina (MRSA), son resistentes, además, a cefalosporinas de tercera generación, estreptomycinas, tetraciclinas y sulfonamidas. La vancomicina es la droga de elección para las cepas MRSA.

Se reporta que de un 10 a un 20 % de *S. aureus* son resistentes a la nafcilina (oxacilina y meticilina). La resistencia a la nafcilina se correlaciona con la presencia del gen *MecA* y el gen que codifica una proteína fijadora de penicilina no afectada por esos fármacos.

El estudio de CNC muestra una resistencia de un 26 a un 74 % a las penicilinas y un 79 % pueden ser resistentes a la meticilina, por lo que se debe utilizar contra estos la vancomicina, aunque en la actualidad Schwalbe y colaboradores han reportado cepas resistentes a la misma.

4. La tipificación de cepas por bacteriófagos: se emplea para la investigación epidemiológica en brotes graves de infecciones por *S. aureus* en un hospital.
5. La composición de los plásmidos.
6. El análisis de plásmidos y ADN cromosomal, con enzimas de restricción (endonucleasas).

La identificación de las cepas debe realizarse mediante dos o más técnicas de las anteriormente mencionadas.

Sistemas comerciales de identificación

1. API Staph-Ident (BioMérieux-Vitek) que utiliza 10 parámetros para la identificación.
2. Staph-Trac. System (BioMérieux-Vitek).
3. ID 32 STAPH (BioMérieux-Vitek).
4. RAP; DEC Staph System (BioMérieux-Vitek).
5. DNA probe kit accuprobe (Gen-Probe, Inc; San Diego).

Identificación por medio molecular. Aquí citaremos el DNA probe kit accuprobe (Gen-Probe, Inc, San Diego).

Pruebas serológicas y de tipificación. Se pueden identificar anticuerpos contra el ácido teicoico en las infecciones profundas prolongadas (ejemplo: osteomielitis, endocarditis estafilocócica) y a veces los distinguen del cuadro de bacteriemia estafilocócica. Estas pruebas serológicas tienen poca utilidad práctica.

La tipificación de cepas se usa para la investigación epidemiológica de la infección sólo en los brotes graves de infecciones por *S. aureus*, por ejemplo, en un hospital.

TRATAMIENTO

Como los microorganismos patógenos se extienden a menudo desde una lesión (ejemplo: forúnculos) hacia otras regiones de la piel, los dedos y la ropa, es importante la antisepsia local escrupulosa para controlar la forunculosis recurrente.

Cuando se producen infecciones cutáneas múltiples (acné, forunculosis) en adolescentes o en pacientes que reciben ciclos prolongados de corticoides, se utiliza tetraciclina para el tratamiento a largo plazo.

Los abscesos y otras lesiones supurativas cerradas se tratan mediante drenajes y medicamentos antimicrobianos. En la osteomielitis crónica y recurrente, el drenaje quirúrgico con recepción del tejido se acompaña de la administración prolongada de fármacos apropiados, aunque es difícil erradicar los estafilococos infectantes. Se ha logrado ayuda para curar la osteomielitis crónica mediante oxígeno hiperbárico y aplicación de colgajos miocutáneos vascularizados.

La bacteriemia, endocarditis, neumonía y otras infecciones graves causadas por *S. aureus*, requieren tratamiento intravenoso prolongado con penicilina resistente a la β -lactamasa. En caso de resistencia a la nafcilina, se emplea vancomicina, pues esta última sigue siendo el fármaco más ampliamente eficaz contra los estafilococos.

EPIDEMIOLOGÍA

Los estafilococos producen una variedad de síndromes con manifestaciones clínicas que varían desde una simple pústula o impétigo hasta septicemia o muerte. Las enfermedades estafilocócicas presentan distintos cuadros clínicos y epidemiológicos, los cuales se describen por separado.

1. Celulitis, abscesos, septicemia, neumonía, osteomielitis, y endocarditis.
 - a) Agente infeccioso: *S. aureus* y *S. epidermidis* son la causa de endocarditis y septicemia.
 - b) Distribución: mundial, influyendo el hacinamiento y la poca higiene.
 - c) Reservorio: el hombre.
 - d) Modo de transmisión: el sitio principal de localización son los orificios nasales. Una tercera parte de estos cuadros son autoinfecciones. Una persona con una infección purulenta es la fuente más común de propagación, efectuándose la transmisión por contacto.
 - e) Período de incubación: variable, comúnmente de 4 a 10 días.
 - f) Susceptibilidad: es mayor la susceptibilidad en recién nacidos y enfermos crónicos. El uso de esteroides y antimetabolitos aumenta la susceptibilidad.
 - g) Prevención: higiene personal y educación al público.
2. Enfermedades estafilocócicas en salas-cunas de hospitales: impétigo, absceso de mamas.
 - a) Agente infeccioso: igual al anterior.
 - b) Distribución: mundial, especialmente en áreas hospitalarias por el descuido en las técnicas de asepsia.
 - c) Modo de transmisión: por medio de las manos del personal que atiende a los pacientes.
 - d) Período de incubación: igual al anterior.
 - e) Susceptibilidad: es mayor en recién nacidos.
 - f) Prevención: utilización de técnicas de asepsia y lavado adecuado de las manos cada vez que se entre en contacto con los niños en las salas-cunas.
3. Síndrome de choque tóxico.
 - a) Agente infeccioso: *S. aureus* productor de toxina 1.
 - b) Distribución: mundial, influyendo el uso de tampones en mujeres que menstrúan u otras infecciones locales (cutáneas, óseas y pulmonares).
 - c) Reservorio: el hombre.
 - d) Período de incubación: es variable, de 4 a 10 días.
 - e) Susceptibilidad: el 80 % ocurre en mujeres en edad menstrual que emplean tampones. El 20 % restante, en mujeres que no menstrúan y hombres con lesiones focales por *S. aureus*.

- f) Prevención: evitar el uso de tampones vaginales, reduciéndose el riesgo si estos se emplean de manera intermitente durante el ciclo menstrual.
4. Intoxicación alimentaria.
- a) Agente tóxico: *S. aureus* productor de enterotoxina.
- b) Distribución: afección muy extendida y relativamente frecuente.
- c) Reservorio: el hombre en la mayoría de los casos, y en raras ocasiones las vacas que tienen las ubres infectadas.
- d) Modo de transmisión: a través de productos alimenticios ricos en proteínas y carbohidratos no cocidos o insuficientemente calentados, tales como: pasteles, flanes, natillas, ensaladas, carnes enlatadas. Cuando estos productos permanecen a temperatura ambiente antes de ser consumidos y son contaminados por *S. aureus* productor de enterotóxina (provenientes de fuentes humanas), el microorganismo se multiplica y libera en ellos la toxina causante del cuadro clínico.
- e) Período de incubación: es de 1 a 6 horas, aunque por lo regular los síntomas aparecen en un período de 2 a 4 horas.
- f) Susceptibilidad: la mayoría de las personas son susceptibles.
- g) Prevención: el tiempo dedicado a la manipulación de alimentos debe reducirse al mínimo. Los alimentos deteriorables deben mantenerse calientes (60 °C o 140 °F) o fríos (4 °C o 39 °F). Prohibir que toda persona con infecciones cutáneas, oculares o respiratorias manipule alimentos.

RESUMEN

El género *Staphylococcus* se incluye en la familia Micrococcaceae; se caracterizan por ser cocos grampositivos agrupados en racimos, inmóviles, no esporulados, anaerobios facultativos, que crecen con facilidad en los medios de laboratorio; son metabólicamente activos; fermentan carbohidratos; son catalasa positiva y producen pigmentos que van desde el blanco al amarillo intenso; muchas cepas son hemolíticas. Algunos son flora normal de la piel y las mucosas, mientras otros producen supuración y absceso. El género incluye alrededor de 30 especies y siete subespecies; de ellas, las de mayor importancia clínica son: *S. aureus*, *S. epidermidis* y *S. saprophyticus*.

S. aureus produce varias enzimas y toxinas responsables de la patogenia y del cuadro clínico; son causa de abscesos, forúnculos, infecciones piógenas diversas, sepsis mortal, síndrome de choque tóxico, meningitis, neumonía, pioartritis, osteomielitis y ocasionan envenenamiento alimentario por la producción de enterotoxina.

Son, en su mayoría, resistentes a las penicilinas y las cepas MRSA son resistentes a los macrólidos, aminoglucósidos, β -lactámicos, tetraciclinas y cloranfenicol, constituyendo estas cepas un serio problema desde el punto de vista clínico y epidemiológico. Su identificación se realiza mediante cultivo y pruebas fisiológicas como la catalasa, coagulasa y la fermentación de carbohidratos. La droga de elección para su tratamiento es la vancomicina.

Por su parte, los estafilococos coagulasa negativa desempeñan un importante papel como causa de sepsis nosocomial en salas de oncología, neonatología, cirugía y terapia, reportándose el *S. epidermidis* en el 74 al 92 % de las bacteriemias intrahospitalarias. Se han encontrado cepas resistentes a la meticilina (MRSE), utilizándose para su tratamiento combinaciones de antibióticos como vancomicina o aminoglucósidos. *S. epidermidis* es causa de infecciones cardíacas después de una cirugía cardiovascular.

Staphylococcus saprophyticus es un agente primario de las peritonitis en pacientes con diálisis peritoneal ambulatoria y un agente común de infecciones urinarias.

Existen especies de estafilococos anaerobios como *S. saccharolyticus* y *S. aureus* ssp. *anaerobius*, así como otros estafilococos que coagulan el plasma (*S. intermedius* y *S. hyicus*) de particular importancia en medicina veterinaria.

BIBLIOGRAFÍA

- Benenson AS. (ed.). Enfermedades Estafilocócicas. En: El Control de las Enfermedades Transmisibles en el Hombre. PC. N°. 442. La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1985:95-104.
- Brumfitt W, Hamilton Miller J. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. N Engl J Med 1989;320:1188.

-
- Holt JC, Bryant MD, Krieg NR, Lapage SP et al. (eds.). Grampositive cocci. *In: The shorter Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th ed. Baltimore: Md, Waverly Press, Inc, 1997:184-6.
- Howard BT, Kloss WS. Staphylococci. *In: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF et al. (eds.). Clinical and Pathogenic Microbiology*. 2nd ed. St. Louis: Mosby-Year Book Inc. 1994:243-56.
- Kloos WE, Lamber DW (jr). *Staphylococcus*. *In: Balows A, Hausler W, Herrman K et al. (eds.). Manual of Clinical Microbiology*. 5th ed. Washington: American Society for Microbiology, 1991:222-35.
- Koneman EW, Allen SD, Dowd VR (jr), Janda WN et al. (eds.). Grampositive cocci. *In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 3rd ed. Philadelphia: JB Lippincott Company, 1988:311-53.
- Novick RP. Estafilococos. *En: Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS (eds.). Tratado de Microbiología Clínica*. 4ta ed. Barcelona: Masson SA, 1996:519-30.
- Patrick CC. Coagulase-negative Staphylococci: Pathogens with increasing clinical significance. *J Pediatric* 1990;116:497.
- Todd J. Infecciones Estafilocócicas. *En: Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM, Nelson WE (eds.). Nelson. Tratado de Pediatría*. 15ta ed. La Habana: Ed. Ciencias Médicas, 1998,933-40.
- Todd JK, Todd BH, Franco-Buff A et al. Influence of focal infection. Conditions on the pathogenesis of toxic shock Syndrome. *J Infect Dis* 1987;155:673.
- Younger JJ, Christensen GD, Bartley DL et al. Coagulase-negative Staphylococci isolated from cerebrospinal fluid shunts: Importance of slime production, species identification, and Shunt removal to clinical outcome. *J Infect Dis*, 1987;156:548.



Capítulo

19

Estreptococos

Jorge L. Zuazo Silva

INTRODUCCIÓN

A pesar de los progresos recientes de las investigaciones fundamentales y aplicadas sobre las enfermedades estreptocócicas, estas siguen constituyendo un problema de salud mundial, independiente de las condiciones climáticas, ecológicas y culturales. Al finalizar el siglo xx, las infecciones por estreptococos del grupo A (*Streptococcus pyogenes*) y sus secuelas supuradas y no supuradas, las infecciones por *Streptococcus* del grupo B y por *Streptococcus pneumoniae*, representan, todavía, causas importantes de morbilidad y mortalidad.

La reciente reaparición de la fiebre reumática y las infecciones estreptocócicas graves como el síndrome de choque tóxico, las erisipelas y la fascitis necrosante, constituyen un reto para los médicos de atención primaria, los especialistas en enfermedades infecciosas, los microbiólogos y las autoridades de Salud Pública, tanto en los países industrializados como en los que están en vías de desarrollo.

Los estreptococos se encuentran distribuidos en la naturaleza de manera amplia. Unos forman parte de la flora normal humana, otros se relacionan con enfermedades con cuadros clínicos muy disímiles, atribuibles, en parte, a la infección por el microorganismo y, por otra parte, a la sensibilización hacia ellos.

El microbiólogo clínico, el médico de asistencia al paciente, el epidemiólogo y los laboratorios de referencia deben llevar a cabo acciones que aseguren la identificación precisa de las infecciones estreptocócicas, indispensable para los programas de lucha contra estas infecciones y sus secuelas.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Los estreptococos son bacterias grampositivas, de formas esférica u ovoide que miden menos de 2 μm de diámetro. Se agrupan en pares o en cadenas, cuyas longitudes varían según las especies y están condicionadas por factores ambientales. Son inmóviles y no forman esporas.

Algunas especies elaboran cápsulas, constituidas por polisacáridos como en el caso de los neumococos o por ácido hialurónico como en algunas cepas de los grupos A, B y C.

Estas estructuras impiden la fagocitosis y se observan con mayor facilidad en cultivos muy jóvenes.

No son productores de catalasa y son oxidasa negativa. Con excepción del *Streptococcus pneumoniae*, no son solubles en bilis y la mayoría de las especies no licúan la gelatina.

La especie *Streptococcus pneumoniae* (neumococo) es similar a las otras especies del género *Streptococcus* en lo que se refiere a su metabolismo fermentativo y en que el ácido láctico es el producto final predominante; pero se presentan como diplococos grampositivos, lanceolados y agrupados en cadenas, fundamentalmente cortas.

Cultivo. Los requerimientos nutricionales varían con las distintas especies. La mayoría, y principalmente las patógenas al hombre, son exigentes en sus requerimientos y necesitan péptidos, purinas, pirimidina y vitaminas. Con el fin de obtener un mejor crecimiento de las cepas de estas especies de estreptococos, los medios de cultivo se enriquecen con sangre o con líquidos hísticos diversos. La mayoría de las especies son anaerobias facultativas y obtienen la energía, sobre todo, por utilización de azúcares. Algunas especies requieren la adición de un 5 a 10 % de CO₂ para crecer e incrementar su hemólisis y otras son anaerobias estrictas.

La temperatura óptima de crecimiento es alrededor de 37 °C, aunque las temperaturas máximas y mínimas varían según la especie.

Características del crecimiento. La mayor parte de las especies crecen en medios sólidos formando colonias discoideas, grises, opalescentes, delicadas, de bordes lisos o arrugados, y miden entre 0,5 y 2 mm o más de diámetro. Las colonias se hacen visibles en placas de agar-sangre generalmente en 18 a 24 horas. En los estreptococos del grupo A se diferencian tres aspectos principales: colonias mucoides, mates y brillantes. Pueden aparecer formas intermedias a las descritas. Cepas de los grupos F y G pueden producir colonias diminutas.

Tradicionalmente se pensaba que las cepas del grupo A que dan colonias lustrosas producen menos proteína M específica de tipo y que por ello se podían considerar menos virulentas que las colonias mucoides o posmucoides. En la actualidad esa relación presenta muchas excepciones y se sabe que el aspecto mucoide de la colonia se debe a la presencia de la cápsula de ácido hialurónico y no guarda relación con la presencia de la proteína M, que es el factor de virulencia más importante.

La determinación de la propiedad hemolítica que producen los estreptococos, basada en las modificaciones que las colonias, al crecer en placas de agar-sangre, imprimen al medio, fue introducida por Schott-Müller en 1903 y constituye la base para su reconocimiento e identificación.

Brown, en 1919, precisó las condiciones técnicas para llevar a cabo la diferenciación por la prueba de hemólisis en placa e introdujo la denominación de hemólisis alfa (α) para la hemólisis parcial, con tono verdoso; hemólisis beta (β), para la hemólisis completa con halo incoloro en torno a la colonia; y gamma (γ), cuando el medio no se modifica. Estas denominaciones corresponden, respectivamente, a las de viridans, hemolíticos y no hemolíticos de Schott-Müller.

Cuando aparece un pequeño halo de eritrocitos intactos o parcialmente lisados adyacente a la colonia bacteriana, seguido de una zona de hemólisis total, se denomina α' o α zona amplia.

En algunas cepas se puede observar una decoloración verdosa parecida a la α -hemólisis alrededor de las colonias, que evoluciona hacia la lisis total (β -hemólisis) sólo después de una incubación prolongada. Se ha señalado que este fenómeno se debe a la inhibición de la hemólisis por el factor de opacidad producido por algunas cepas del grupo A.

Desde los inicios de la década de 1980, Zuazo y colaboradores, con vista a un mejor reconocimiento de la hemólisis de los estreptococos en los primocultivos, ensayaron en Cuba el método de siembra por estría-profundidad y la observación de los cultivos, a simple vista y con ayuda del microscopio, según lo recomendado por la OPS y por Rotta y Facklam.

Por los buenos resultados obtenidos se normó el método en Cuba, fundamentalmente en los primocultivos de los productos patológicos donde el hallazgo de los estreptococos fuera frecuente e importante.

En la literatura internacional aparecen informes de aislamientos de cepas de estreptococos del grupo A (que habitualmente es β -hemolítico), asociadas a brotes de fiebre reumática y a otros cuadros clínicos, presentándose como α -hemolíticos y no hemolíticos. Se recomienda que a dichas cepas se les identifique su grupo serológico, en los siguientes casos: frente a un brote de fiebre reumática aguda y no se logre aislamiento de organismos β -hemolíticos de los pacientes enfermos o si el laboratorio decide agrupar todos los estreptococos de infecciones serias como endocarditis.

Lo antes descrito constituye una alerta para los microbiólogos clínicos en el momento de establecer el diagnóstico de una cepa con estas características, ya que la determinación de la hemólisis es la base de la identificación de los estreptococos.

Los neumococos forman colonias pequeñas y redondas, al principio cupuliformes, que posteriormente desarrollan una meseta central con bordes elevados y producen α -hemólisis en agar-sangre y su crecimiento se beneficia en presencia de un 5 a 10 % de CO_2 .

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Es variada y compleja. Su estudio resulta de gran importancia para la microbiología clínica, pues pocas veces el hombre se enfrenta a bacterias con estructura antigénica tan compleja y con producción de diversas sustancias extracelulares.

Con el conocimiento de estas estructuras se comprenden eventos relativos a su patogenicidad y nos permite una mejor interpretación de los resultados del laboratorio de microbiología clínica.

En una presentación estereoquímica de una célula de la especie tipo (*Streptococcus pyogenes*) encontramos a la cápsula constituida por ácido hialurónico, como la estructura más externa.

Hacia el interior de la célula se halla la pared bacteriana, cuya composición es la típica de las bacterias grampositivas, constituida, básicamente, por peptidoglucano, ácido teicoico, una gran variedad de hidratos de carbono y de antígenos proteicos de superficie. Está cubierta de protrusiones de tipo piloso o fimbrias formadas por los antígenos proteínicos M, T y R, y por ácido lipoteicoico.

Las proteínas R y T son marcadores epidemiológicos muy útiles, pero se desconoce su función biológica. El ácido lipoteicoico facilita la adherencia de los estreptococos a las mucosas. La proteína del grupo M es un destacado factor de virulencia y se ha logrado identificar 80 serotipos antigénicos.

El factor de opacidad del suero (FO o SOF) es una enzima específica de tipo, asociada antigénicamente a ciertos serotipos de proteínas M, que produce opacidad en los sueros de distintas especies de mamíferos. Actualmente se reconocen alrededor de 27 tipos que producen el factor de opacidad.

El polisacárido C es otro constituyente esencial de la pared estreptocócica, cuya estructura antigénica es determinante de los grupos serológicos (según la clasificación de Lancefield, desde el grupo A hasta el H y desde el grupo K al V, más los grupos provisionales W al Z).

Más internamente se encuentra la membrana citoplásmica y el citoplasma, este último con un complejo conjunto de nucleoproteínas, algunas dotadas de actividad enzimática. Los antígenos de estas estructuras no son utilizados en la actualidad en la clasificación ordinaria de los estreptococos.

Los *Streptococcus pneumoniae* tienen sus peculiaridades en cuanto a su estructura antigénica. El polisacárido capsular es inmunológicamente diferente para cada uno de los 84 tipos existentes. Su porción somática contiene una proteína que es característica de cada tipo y un carbohidrato que es común para todos los neumococos.

TOXINAS Y ENZIMAS

Los estreptococos del grupo A producen más de 20 productos extracelulares, entre los que encontramos:

Toxinas eritrogénicas A, B y C. Son exotoxinas antigénicas, responsables, entre otras cosas, del exantema en la escarlatina. Se producen en cepas que se encuentren en estado lisogénico, o sea, infectadas por un fago. Es un potente pirógeno.

Su naturaleza proteica les confiere antigenicidad, lo que estimula la producción de anticuerpos neutralizantes.

Estreptolisina S. Es una toxina no antigénica, estable en oxígeno, produce la hemólisis alrededor de las colonias de los estreptococos que se desarrollan en la superficie de las placas de agar-sangre.

Estreptolisina O. Es una citolisina oxígeno lábil, de modo reversible. Posee una acción cardiotóxica. Debido a su inestabilidad en presencia del oxígeno, se pone de manifiesto en placas cultivadas en aerobiosis, en las colonias que crecen por picaduras de la superficie del agar, o sea, las colonias que han crecido en la profundidad.

Provoca una respuesta de formación de anticuerpos, antiestreptolisina O, cuya titulación se utiliza en el diagnóstico inmunoserológico como prueba de la infección.

Hialuronidasa. Es una enzima que desdobra al ácido hialurónico, constituyente importante del tejido conjuntivo, por lo cual favorece la diseminación de los microorganismos infectantes.

Es antigénica, por lo que se hallan anticuerpos específicos después de una infección por estreptococos productores de la enzima.

Estreptocinasa, fibrinolisisina o estreptoquinasa. La producen diferentes cepas de estreptococos β -hemolíticos y provoca la transformación del plasminógeno en plasmina. Es una enzima proteolítica activa, que digiere a la fibrina y a otras proteínas. Se conocen dos tipos: A y B. Es antigénica y estimula la formación de un anticuerpo específico, la antiestreptocinasa.

Se administra por vía endovenosa para el tratamiento de embolias pulmonares y de trombosis venosas. En nuestro país, con el desarrollo de la biotecnología, se produce con fines terapéuticos.

Estreptodornasa o desoxirribonucleasa. Enzima que depolimeriza el ADN y se conocen cuatro tipos: A, B, C y D. Anticuerpos a las DNAsas se desarrollan después de las infecciones estreptocócicas, especialmente después de infecciones cutáneas (piodermitis).

Se emplea en la terapéutica junto a la estreptocinasa en el desbridamiento enzimático, fluidificando exudados y facilitando la remoción de pus y tejido necrótico.

Difosfopiridín nucleotidasa. Es una enzima elaborada en el medio ambiente por algunos estreptococos y se relaciona con la capacidad de estos microorganismos para destruir leucocitos.

Otras enzimas. Algunas cepas son productoras de proteinasa y de amilasa.

CLASIFICACIÓN DE LOS ESTREPTOCOCOS

El género *Streptococcus*, perteneciente a la familia *Streptococcaceae*, está constituido por una gran diversidad de especies que presentan características biológicas y exigencias nutricionales muy variadas. La especie tipo del género es *Streptococcus pyogenes* (Rosenbach, 1884).

Si partimos de la ubicación taxonómica de los estreptococos, que aparece en la 9na edición del *Manual de Bergey* del año 1986, y hacemos un análisis retrospectivo y prospectivo, observamos cómo a través del tiempo, la clasificación de los estreptococos ha sufrido una gran cantidad de variaciones tales como: la inclusión y exclusión de especies y la reutilización de los “grupos taxonómicos” (antes llamados piógenos, enterococos, viridans y láctico) que han recibido diferentes denominaciones y cada uno abarca varias especies.

En algunos casos, nombres de especies distintas se han usado para describir los mismos microorganismos y algunos miembros de la misma especie se han incluido en otra especie o clasificado por separado.

Estas modificaciones se han ido realizando al aplicar resultados de taxonomía numérica, quimiotaxonomía y técnicas genéticas, dándole cada vez menos peso a los criterios serológicos (grupos de Lancefield), ya que este aspecto resulta de gran interés en la identificación práctica de los estreptococos patógenos, pero no debe usarse como la base principal que permita establecer relaciones taxonómicas entre los estreptococos.

Como resultado de estos intentos de clasificación, se han originado diversos esquemas y aún en el momento actual muchos difieren en la denominación y reconocimiento de especies. Estas diferencias en las especies viridans continúan causando confusiones en la terminología de los mismos. Quedan todavía muchas interrogantes sobre las especies de estreptococos, muchas sin nomenclatura y sin afiliación definida.

Un cambio importante lo constituyó la creación del género *Enterococcus* que había sido sugerido por Kalina en 1970, pero no fue hasta 1984 en que Schleiffer, Klipper-Blaz y Collins lo fundamentan y se sustenta por datos de estudios de hibridación (ver capítulo "*Enterococos*").

A través de muchos años, se ha manejado una serie de características con el fin de crear clasificaciones prácticas. Entre ellas: la morfología de las colonias y sus reacciones hemolíticas, las especificidades serológicas de la sustancia de la pared celular que indica el grupo y otros antígenos de pared o de cápsula, las reacciones bioquímicas y de resistencia a factores físicos y químicos, y características ecológicas. También se han usado pruebas bioquímicas adicionales y genética molecular para estudiar las relaciones de las especies entre sí.

La combinación de los métodos citados ha permitido establecer clasificaciones de estreptococos con propósitos de conveniencia clínica y epidemiológica, produciéndose como resultado final la descripción de varias clasificaciones. Por razones esencialmente prácticas y con vista a facilitar el diagnóstico desde el enfoque de la microbiología clínica, Rotta y Facklam propusieron que los gémenes del género *Streptococcus* se dividan en dos categorías:

1. Los estreptococos β -hemolíticos, los cuales, salvo excepciones, son clasificados en grupos según el sistema de Lancefield.
2. Los estreptococos α -hemolíticos y no hemolíticos, que pueden pertenecer a grupos de Lancefield o no.

En la actualidad, en el campo de la microbiología médica se tiende a señalar la clasificación de aquellos estreptococos de interés médico, con un análisis de las propiedades antes señaladas; a continuación se relacionan los siguientes (Cuadro 19.1):

1. *Streptococcus pyogenes*: son β -hemolíticos y poseen antígenos del grupo A. Son susceptibles a la bacitracina y producen hidrólisis de l-pirrolidonil-2-naftilamida (positivos a PIR). Se subdividen en tipos serológicos.
2. *Streptococcus agalactiae*: son β -hemolíticos, con una zona de hemólisis muy estrecha y, en algunas ocasiones, con una hemólisis de doble zona. Hidrolizan el hipurato de sodio, dan respuesta positiva a la prueba de CAMP y la mayoría de las cepas son resistentes a la bacitracina.
3. *Streptococcus bovis*: producen α -hemólisis o no son hemolíticos. A veces se clasifican como viridans. Pertenecen al grupo D de Lancefield. Proliferan en presencia de bilis, hidrolizan la esculina (positivos a la prueba de bilis-esculina), no crecen en NaCl al 6,5 %, son PIR negativos, generalmente son CAMP positivos y fermentan la lactosa.
4. *Streptococcus* grupo C y G: son β -hemolíticos, con una zona de β -hemólisis más grande que la del grupo A. Se puede realizar el diagnóstico presuntivo probando su sensibilidad frente a discos con sulfametoxazol-trimetoprim, su resistencia a la bacitracina y la no hidrólisis del hipurato; la prueba de CAMP resulta negativa, fermentan la trehalosa y no el sorbitol. Se identifican por reacciones con inmunosueros específicos.
5. *Streptococcus pneumoniae*: son α -hemolíticos. Son sensibles al clorhidrato de etilhidrocupreína (optoquina) y son solubles en bilis y en sales biliares.
6. *Streptococcus viridans*: son α -hemolíticos (de aquí su nombre viridans). La optoquina no inhibe su crecimiento y las colonias no son solubles en bilis ni sales biliares. No hidrolizan esculina ni hipurato, son CAMP negativos, no crecen en caldo con NaCl al 6,5 %. Algunas cepas son susceptibles a la bacitracina. Para la identificación y especiación de las cepas del grupo viridans se requiere la realización de múltiples pruebas y, por lo general, se identifican las especies sólo cuando el aislamiento es a partir de pacientes con infecciones severas o si fuera necesario desde el punto de vista epidemiológico.

7. *Streptococcus nutricionalmente variantes*: suelen ser α -hemolíticos y algunos no hemolíticos. Se han conocido como estreptococos deficientes nutricionalmente, estreptococos dependientes de piridoxal, estreptococos satélites y con otras denominaciones. Requieren cisteína o las formas activas de la vitamina B6 (piridoxal o piridoxamina). Pueden sembrarse estrías de estafilococos sobre la placa de agar-sangre para lograr el crecimiento de estos estreptococos en forma de satelitismo.

Las especies *Streptococcus defectivus* y *Streptococcus adjacens* pertenecen a este grupo.

8. *Streptococcus anaerobios*: producen hemolisinas de modo variable. Proliferan solamente bajo condiciones anaerobias.

Cuadro 19.1. Estreptococos de importancia médica

Denominación	Grupo de Lancefield	Hemólisis	Hábitat	Datos de laboratorio de importancia diagnóstica	Enfermedades más frecuentes
<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	Beta	Garganta, piel	Inhibición por bacitracina. PIR positivo	Faringitis, piodermis, erisipela, escarlatina, fiebre reumática, glomerulonefritis
<i>Streptococcus agalactiae</i>	B	Beta	Tracto genital femenino	CAMP positivo, hidrólisis del hipurato	Sepsis y meningitis neonatal
<i>Streptococcus bovis</i>	D	No produce	Colon	Crece en presencia de bilis, hidroliza la esculina, no crece en NaCl al 6,5 % y degrada el almidón	Endocarditis, bacteriemia en cáncer de colon
<i>Streptococcus grupos C y G</i>	C o G	Beta	Nasofaringe	Resistentes a la bacitracina, sensibles al sulfametoxazol trimetoprim	Sinusitis, bacteriemia, endocarditis
<i>Streptococcus viridans</i> (grupo integrado por diferentes especies)	Algunas especies poseen sustancia específica de grupo y otras no	Alfa	Garganta, boca, intestino, genitales femeninos	Resistentes a la optoquina, no solubles en bilis, diferentes patrones de fermentación de carbohidratos (según especie)	Endocarditis, caries dental, (<i>S. mutans</i>) abscesos
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	No poseen sustancia específica de grupo	Alfa	Tracto respiratorio superior	Prueba de hinchazón de la cápsula, lisis por agentes tensoactivos, sensibles a la optoquina	Neumonía, sinusitis, otitis, meningitis, endocarditis, artritis séptica

PATOGENIA Y CUADRO CLÍNICO

La infección estreptocócica en el hombre da lugar a una amplia variedad de manifestaciones clínicas, las cuales estarán en dependencia de la especie de estreptococo que la produzca, de sus propiedades biológicas infectantes, del punto de entrada de la infección, de los tejidos infectados y de la naturaleza de la respuesta del hospedero.

Infecciones por estreptococos β -hemolíticos del grupo A

Los *Streptococcus pyogenes* (estreptococos del grupo A) causan una amplia variedad de infecciones y secuelas que aparecen con más frecuencia, pero no exclusivamente, en niños, adolescentes y adultos jóvenes. Pueden manifestarse en forma endémica o epidémica.

Su puerta de entrada principal y localización más común son las vías respiratorias superiores. La amigdalofaringitis estreptocócica es la más frecuente de las infecciones bacterianas de la garganta. En la mayoría de los casos es una infección autolimitante, pero puede evolucionar y producir abscesos (en amígdalas, tejidos periamigdalares y retrofaringeos) o linfadenitis cervical, sinusitis, otitis media, mastoiditis e, incluso, meningitis.

En las vías respiratorias inferiores pueden originar neumonías.

Si el estreptococo infectante elabora toxina eritrogénica, se produce una erupción típica (exantema escarlatinoso) que da lugar al cuadro clínico conocido por fiebre escarlatina.

Entre las infecciones cutáneas primarias provocadas por los estreptococos del grupo A, la más habitual es el impétigo (pioderma), en particular en los climas tropicales. Otras infecciones estreptocócicas de piel son las erisipelas, las infecciones purulentas localizadas resultantes de traumatismos y heridas menores, y las celulitis, en especial la celulitis perianal.

Algunos casos, que han sido excepcionales, pero graves, de fascitis necrosante o miositis se han vinculado a infecciones cutáneas.

Otra localización primaria de estos estreptococos es el tracto genital femenino, todavía se observa en muchos países: vulvovaginitis y fiebres puerperales.

Estas infecciones locales de la garganta, la piel y del tracto genital femenino pueden difundirse a través de vías linfáticas y extenderse a la circulación sanguínea, así como transformarse en una septicemia que amenace la vida del paciente, en infecciones supuradas metastásicas (artritis, osteomielitis, peritonitis, endocarditis aguda) o en un síndrome de choque tóxico estreptocócico, que provoca la muerte a cerca del 30 % de los pacientes.

Los estreptococos del grupo A son capaces de dar lugar a secuelas tardías no supuradas (enfermedades posestreptocócicas), como la glomerulonefritis, que puede aparecer después de la infección de la garganta o la piel por cepas nefritógenas (serotipos M12; 4; 2; 49 y del 59 al 61), y la fiebre reumática, que es sólo consecutiva a infecciones de la garganta.

En un estudio realizado por Zuazo, Almaguer y colaboradores sobre un brote de nefritis aguda ocurrido en una comunidad rural de la provincia Las Tunas, en Cuba, se demostró que los serotipos circulantes fueron el M12 (en los exudados faríngeos) y el M49 (en las lesiones de piel).

El período de latencia existente entre la infección estreptocócica y la aparición de estas secuelas no supuradas, sugiere que tales enfermedades posestreptocócicas no son atribuibles al efecto directo de las bacterias que se han diseminado, sino que más bien representan una respuesta de hipersensibilidad.

La glomerulonefritis puede ser iniciada por complejos antígeno-anticuerpo que actúan sobre la membrana basal glomerular. En la fiebre reumática se producen lesiones en válvulas y músculo cardíacos. Ciertas cepas de estreptococos del grupo A contienen antígenos en la membrana celular que dan reacción cruzada con los antígenos del tejido cardíaco humano.

Esta enfermedad tiende a ser reactivada por infecciones estreptocócicas recurrentes. De ahí la importancia de la profilaxis de las infecciones recurrentes.

Infecciones por estreptococos del grupo B

El *Streptococcus agalactiae* (estreptococo grupo B) fue reportado por primera vez como patógeno humano en el año 1935, por Fry, que describió tres casos fatales de sepsis puerperal. Estos estreptococos fueron reportados como patógenos humanos, pero de manera infrecuente. En la década de 1960 diferentes autores señalaron que la enfermedad debida a estos microorganismos podía ser más frecuente que lo señalado hasta ese momento.

Es en la década de 1970 cuando los *Streptococcus* del grupo B toman importancia como un agente productor de enfermedad en el hombre, siendo causa de infección común en pacientes púerperas febriles y en los recién nacidos.

Estos estreptococos se aíslan en más del 20 % de los cultivos de muestras procedentes de los tractos genitourinario y gastrointestinal bajo de mujeres embarazadas. Pueden encontrarse también en el tracto urinario de embarazadas con bacteriuria asintomática. En un estudio realizado por Zuazo, Fandiño, Suárez y Valdés en Ciudad de La Habana, Cuba, a mujeres embarazadas, se aisló el microorganismo asociado a bacteriuria en el 12,8 % de las gestantes sintomáticas y en el 12 % de las asintomáticas. No se aisló el estreptococo del grupo B del grupo de mujeres no gestantes (sintomáticas y asintomáticas).

El 9 % de las parturientas y los recién nacidos portan estos microorganismos en sus gargantas, vaginas y pezones. Se conocen índices de un 25 % de recién nacidos portadores, en sus ombligos.

La sepsis neonatal por este agente ha ido en aumento y es una de las causas principales de meningitis, sepsis fulminante y de síndrome de insuficiencia respiratoria durante los dos primeros meses de vida en muchos países.

Streptococcus bovis

Pertenece al grupo D de Lancefield. Se halla normalmente en el tracto intestinal y el genital humano, así como en el tracto intestinal de ovejas y ganado bovino.

La manifestación clínica más frecuente en el hombre es la endocarditis. La producción de bacteriemias se ha asociado a pacientes con neoplasias del tracto gastrointestinal, especialmente con carcinoma de colon.

Estreptococos de los grupos C, G y F

A diferencia de los grupos A y B, que cada uno contiene sólo un importante patógeno humano, los grupos C, G y F pueden comprender diferentes especies, son habitantes comunes de diversas especies animales y, por lo tanto, la infección humana pudiera resultar de la exposición al animal o a sus productos (huevos, leche mal pasteurizada).

Los grupos C y G pueden colonizar la faringe humana, el tracto intestinal y la vagina. Las infecciones clínicas se clasifican en: exógenas o endógenas.

Las *infecciones endógenas* pueden ocurrir con condiciones alteradas del hospedero tales como: la edad (neonatos y ancianos), alcoholismo, adicción a las drogas, diabetes mellitus, inmunodepresiones y cáncer.

Los estreptococos del grupo F tienen una marcada selectividad para infectar a pacientes con otra enfermedad de base o con antecedentes de traumas. Entre las infecciones causadas por los grupos C, G y F podemos señalar las producidas:

Por el grupo C: faringitis, amigdalitis, sepsis puerperal, neumonía, endocarditis, bacteriemia, osteomielitis, abscesos cerebrales, meningitis e infecciones de heridas quirúrgicas.

Por el grupo G: sepsis puerperal y neonatal, artritis séptica, otitis media, faringitis, meningitis, neumonía, empiema, bacteriemia, peritonitis y celulitis.

Por el grupo F: abscesos cérvico-faciales, dentales e intraabdominales. Se han asociado también a empiema, osteomielitis, meningitis y bacteriemia.

Estreptococos viridans

Se ha considerado que los estreptococos viridans tienen un bajo potencial patogénico y que las infecciones clínicas ocurren después de su salida de su hábitat.

Constituyen el 60 a 70 % de los miembros de la flora bacteriana de la boca, por lo cual después de una extracción dentaria, por lo menos el 30 % de los pacientes tienen bacteriemia por estreptococos viridans.

Estos estreptococos, constituyentes preponderantes de la flora del aparato respiratorio superior, son también los agentes causales más frecuentes de las endocarditis bacterianas subagudas y se han aislado de infecciones de todos los órganos y sistemas incluyendo el nervioso central, respiratorio, urogenital, músculo-esquelético y de la piel.

La asociación de especies del grupo viridans con la caries dental y con la endocarditis está bien establecida.

Se describe diferente frecuencia de aislamiento de las especies de los estreptococos viridans, de acuerdo con la manifestación clínica, y así podemos citar a: *Streptococcus sanguis* I y II, *Streptococcus mitis* y *Streptococcus salivarius* aislados de diferentes productos patológicos y los dos últimos, asociados a endocarditis; al *Streptococcus mutans*, relacionado con la caries dental; y al *Streptococcus intermedius* como agente causal de lesiones purulentas, tales como: absceso cerebral, meningitis, absceso hepático y apendicitis.

Streptococcus pneumoniae

Los neumococos son habitantes del tracto respiratorio superior humano; entre el 30 y el 70 % de las personas normales son, en algún momento de su vida, portadoras de neumococos virulentos, por lo cual se plantea una gran resistencia de la mucosa respiratoria normal.

Diversos factores pueden disminuir esta resistencia y predisponer, por lo tanto, a una infección neumocócica. Entre los mismos podemos citar: desnutrición, debilidad general, anormalidades del aparato respiratorio, intoxicación alcohólica o medicamentosa, nefrosis, hipoesplenismo, deficiencia del complemento, dinámica circulatoria anormal y anemia de células falciformes, entre otras.

Las infecciones neumocócicas son frecuentes en pacientes con estados de inmunodeficiencias, en pacientes esplenectomizados, con agammaglobulinemia, mieloma múltiple y leucosis aguda y crónica.

La virulencia de este microorganismo está relacionada con la cápsula, la cual lo previene de la ingestión por los fagocitos. Esta resistencia a la fagocitosis y la subsecuente invasión y multiplicación en los tejidos del hospedero, son las principales propiedades que lo facultan para producir enfermedad. Producen varias sustancias (neumolisinas, hialuronidasa, leucocidinas, neuramidasa y autolisinas), cuyo papel patogénico no está bien aclarado aún, por lo que se consideran factores de patogenicidad muy secundarios.

La patogénesis de la neumonía neumocócica es debida a la rápida multiplicación del microorganismo en los espacios alveolares con exudación de edema fibrinoso, seguido de eritrocitos y leucocitos polimorfonucleares, lo cual da como resultado la consolidación de porciones de los pulmones. En un 20 % de estos pacientes, la neumonía se acompaña de bacteriemia, teniendo, en este caso, cifras de mortalidad más elevadas.

A partir del aparato respiratorio, los neumococos pueden alcanzar otros sitios, los senos óseos, el oído medio, la mastoides y las meninges. Pueden producir, además, endocarditis, artritis séptica, empiema, pericarditis y peritonitis.

Los serotipos 1 al 8 ocasionan, aproximadamente, el 75 % de las neumonías neumocócicas en los adultos; y los tipos 6; 14; 19 y 23 son las causas más corriente de las infecciones en los niños.

Estreptococos anaerobios

Se encuentran normalmente en el aparato genital femenino, en la boca y en el intestino. Dan lugar a lesiones supurativas que con frecuencia están asociadas a otros anaerobios, principalmente, *Bacteroides*.

Estas infecciones se presentan en las heridas, en las mamas, en las endometritis posparto, después del rompimiento de alguna víscera abdominal o en las supuraciones crónicas del pulmón. Tales supuraciones suelen tener un olor muy fétido.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Muestras. Las muestras que se van a obtener dependen de la naturaleza de la infección estreptocócica. Se pueden obtener con mayor frecuencia: muestras de exudado faríngeo, pus, LCR, sangre, esputos, exudado ótico y otras.

Exámenes microscópicos de frotis. Los frotis hechos a partir de exudados, fundamentalmente purulentos, suelen mostrar cocos aislados, en pares o en cadenas muy cortas. Se observan grampositivos. Si se ven estreptococos en los frotis de pus y no se recupera el microorganismo del cultivo, hay que valorar la presencia de un estreptococo anaerobio.

La interpretación de los resultados de la observación de los frotis depende del producto patológico a estudiar, ya que los frotis de exudados faríngeos hechos con hisopos no son dilucidantes, debido a la normal presencia de los estreptococos viridans, con iguales características morfológicas y tintoriales. Sin embargo, resulta de gran valor cuando se observan diplococos lanceolados, encapsulados y grampositivos en una muestra de un LCR o de un pus, lo que nos sugiere la presencia de un neumococo.

Cuando se trata de la muestra de esputo de un paciente con neumonía neumocócica, los frotis teñidos por el método de Gram muestran los organismos típicos.

Pruebas de detección de antígenos. Están dirigidas, en lo fundamental, a la detección de los antígenos de *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus* grupo C y *Streptococcus pneumoniae*.

Existen diferentes métodos para la detección de los mismos, entre los que podemos citar: la contraímmunoelectroforesis (CIE), métodos inmunoenzimáticos (IEA) y las pruebas de aglutinación, empleando partículas de látex adheridas al inmunosuero (LA) o dicho suero unido a la proteína A de células estafilocócicas (coaglutinación [COA]).

Otro método a emplear es la tinción con un anticuerpo específico fluorescente y su observación al microscopio de fluorescencia.

En pacientes con neumonía neumocócica, el esputo fresco emulsionado y mezclado con antisueros (suero polivalente o suero antipolisacárido específico del tipo) da “hinchamiento de la cápsula o reacción de Quellung”, para identificación de neumococos y del serotipo respectivamente.

La principal ventaja de estas pruebas es la obtención rápida de sus resultados, entre minutos y algunas horas después de tomada la muestra. Este tiempo está en dependencia del método utilizado. Tienen una sensibilidad entre un 60 a 90 % y una especificidad de 98 a 99 % cuando se les compara con los métodos de cultivo.

Cultivo. Las muestras se cultivan en placas de agar-sangre. Si hay sospecha de anaerobios, se inocularán los medios propios para estos microorganismos. La siembra en superficie de medios sólidos en placas de Petri, se realizará por estrías con cortes en el agar.

La muestra de sangre para hemocultivo se sembrará en los medios líquidos adecuados. El crecimiento de los estreptococos en estos casos puede ser más lento.

La incubación en CO₂ entre 5 y 10 % (método de la vela o incubadora de CO₂), puede acelerar la hemólisis y resulta indispensable cuando realizamos un cultivo donde se sospecha la presencia de neumococos.

Identificación. El reconocimiento de las características de las colonias y el tipo de hemólisis, son las premisas de la identificación; pero un informe de microbiología clínica que indique sólo la presencia de estreptococos β-hemolíticos es muy insuficiente. El diagnóstico clínico preciso depende de que se conozca el grupo serológico específico de los estreptococos implicados en la infección.

El agrupamiento serológico y la tipificación deberán realizarse siempre que sea posible para una clasificación definitiva y por razones epidemiológicas. Los carbohidratos específicos de grupo pueden ser extraídos por diferentes métodos: calor, ácido caliente o enzimas. Cuando dichos antígenos se enfrentan a los sueros correspondientes, dan reacciones de precipitación específica que permiten clasificar a la cepa aislada, en los grupos serológicos de Lancefield. Se emplean también métodos de aglutinación látex (LA) y de coaglutinación (COA).

A las cepas de *Streptococcus pyogenes* (grupo A), se les puede completar su identificación en serotipos M.

La especificidad antigénica de los polisacáridos capsulares del *Streptococcus pneumoniae* y del *Streptococcus agalactiae* se usa para tipificar los mismos.

Para completar la identificación de especie, se pueden usar pruebas bioquímicas, pruebas de susceptibilidad o resistencia a ciertos agentes químicos y presencia de enzimas.

Se han elaborado pruebas para la identificación presuntiva de algunos grupos de estreptococos, sobre todo los de mayor importancia médica. Entre las pruebas disponibles para los estreptococos del grupo A figuran la prueba del disco de bacitracina y la prueba PIR; para los del grupo B se encuentran la hidrólisis del hipurato y la prueba de CAMP; para el neumococo tenemos la prueba de la optoquina y la solubilidad en bilis; para los grupos C y G se utiliza el disco de bacitracina junto a uno de sulfametoxazol-trimetoprim; y para los estreptococos del grupo D (no enterococos) empleamos el cultivo en medio de bilis-esculina y NaCl al 6,5 %.

Es importante recordar que estas pruebas no son totalmente fiables, tienen buena sensibilidad y especificidad, fundamentalmente si se combinan y se hace una adecuada interpretación de sus resultados (ver Cuadro 19.1), pero en algunos casos se requieren pruebas de confirmación.

Existen en la actualidad métodos no serológicos que permiten la identificación de cepas. Estos métodos se han elaborado, en parte, como respuesta a los problemas que conlleva, a menudo, la producción de un elevado número de sueros diagnósticos específicos para la serotipificación estreptocócica. Además ofrecen la ventaja de que pueden utilizarse para identificar y definir relaciones entre cepas cuyo tipo no se puede determinar mediante las técnicas convencionales. Entre los mismos podemos citar: fagotipia, tipificación por bacteriocina, electroforesis en gel de ADN en pequeños fragmentos, ribotipia, electroforesis en gel en campo pulsante de ADN en fragmentos grandes, tipificación vir y otras.

Pruebas serológicas para determinar anticuerpos. Las auténticas infecciones por estreptococos del grupo A son las que van seguidas de una respuesta inmunológica específica, consistente en un aumento significativo del título de anticuerpos frente a uno, por lo

menos, de los antígenos estreptocócicos extracelulares (estreptolisina O, desoxirribonucleasa B, hialuronidasa o nicotinamida-adenina-dinucleotidasa). Dichas respuestas pueden utilizarse para diferenciar la infección auténtica del estado de portador.

La elevación de los títulos puede comenzar poco después del inicio de la infección: los títulos máximos de antiestreptolisina O (AELO) suelen aparecer entre 3 y 5 semanas después del inicio de la infección, pero el título de anti-Dnasa B no alcanza el nivel máximo hasta 6 a 8 semanas después del comienzo.

El descenso progresivo del título de anticuerpos comienza en pocas semanas, pero la tasa de descenso varía considerablemente de un enfermo a otro; los títulos de anti-Dnasa suelen permanecer elevados más tiempo que los de AELO.

Un aumento del título de anticuerpos puede interpretarse como indicio de una infección reciente por estreptococos del grupo A. Sin embargo, un hecho que tiende a confundir la interpretación de los resultados de laboratorio, es cuando vamos a considerar alto o bajo el nivel absoluto de anticuerpos.

La dificultad surge al tratar de establecer el criterio de “normalidad”, ya que la determinación de dichos títulos de AELO presenta los mismos problemas teóricos que la definición de cualquier característica biológica normal.

El llamado límite superior de un título “normal” es simplemente un valor estadístico para una población dada, en un momento determinado y debe aplicarse con precaución. Por lo tanto, este límite puede variar de acuerdo con la edad, la estación del año, el área geográfica, condiciones sociales, estado económico y otros factores relacionados con la frecuencia de la infección estreptocócica en la población estudiada.

Por lo antes expuesto es necesario fijar los límites de “normalidad” para cada región. En Cuba, Zuazo y colaboradores han realizado diferentes estudios sobre el tema, valorando a través de varios años el título medio de AELO en población adulta y en grupos de niños, sanos y con diagnóstico de fiebre reumática. Los grupos de población estudiados pertenecían a distintas provincias del país. Los títulos medios de AELO encontrados en la población adulta sana (entre 18 y 57 años de edad) correspondió a 250 U Todd y en la población infantil se hallaron cifras promedio de 350 U Todd.

El título de AELO tiende a ser más alto en enfermos con fiebre reumática aguda que después de infecciones sin complicaciones. En los estudios realizados por Zuazo, Sanchén y colaboradores, se registraron diferencias significativas entre los títulos promedio de AELO de los niños con fiebre reumática activa (518 U Todd) e inactiva (364 U Todd).

Los individuos normales pudieran tener títulos más elevados que los valores promedio aceptados como normales, y, además, representar infecciones pasadas y no equivalentes a enfermedad.

Otras pruebas de laboratorio. Para el diagnóstico de neumococos, se utiliza la inyección intraperitoneal del esputo a ratones de laboratorio. Los animales mueren entre 18 y 48 horas. La sangre del corazón da cultivo puro de neumococos.

INMUNIDAD

La resistencia contra las enfermedades estreptocócicas es específica de tipo. Un hospedero que se haya recuperado de una infección por estreptococo del grupo A, de un tipo M determinado, es más o menos resistente a las reinfecciones por el mismo tipo M, pero sensible a infecciones por otros tipos M.

La inmunidad para la toxina eritrogénica está dada por la presencia de antitoxina en sangre del hospedero, lo cual protege sólo contra el exantema de la escarlatina. La elevación de los anticuerpos AELO no indica inmunidad.

En la infección neumocócica, la inmunidad es específica de tipo y depende de los anticuerpos al polisacárido capsular.

TRATAMIENTO

Los estreptococos β -hemolíticos del grupo A son sensibles a la penicilina G y a la eritromicina. Algunos son resistentes a las tetraciclinas.

Los estreptococos β -hemolíticos del grupo B son sensibles a la penicilina G. Son también sensibles a la ampicilina y aminoglucósidos; a cefalosporinas de primera y segunda generaciones (excluyendo cefoxitin) y la ceftriaxona es la más eficaz entre las de tercera generación. El imipenem tiene también gran actividad *in vitro* e *in vivo*.

Los neumococos son sensibles a muchos antimicrobianos, siendo la penicilina el medicamento de elección, aunque desde la década de 1970 aparecieron cepas resistentes a la misma. Se ha reportado, también, resistencia a tetraciclinas, eritromicina y lincomicina, y otras que ofrecen multiresistencia, incluyendo a la penicilina.

Los estreptococos α -hemolíticos varían ampliamente en cuanto a la susceptibilidad frente a los agentes antibacterianos. Un creciente porcentaje de estreptococos viridans muestra resistencia a la penicilina, principalmente las cepas recuperadas de pacientes con historia de enfermedad cardíaca, necesitados de profilaxis antimicrobiana. Las pruebas de susceptibilidad *in vitro* resultan de gran utilidad.

EPIDEMIOLOGÍA

Muchas especies del género *Streptococcus* forman parte de la flora indígena del cuerpo humano y provocan enfermedades sólo cuando se establecen fuera de su hábitat. En la prevención de tales situaciones, esencialmente durante intervenciones quirúrgicas de determinadas regiones que pudieran dar lugar a bacteriemias transitorias, se administran antimicrobianos como medida profiláctica.

La mayor incidencia de infecciones causadas por *S. pyogenes* se encuentra en la faringe; son los niños, los que más frecuentemente la padecen, por lo general entre los 5 y los 13 años. En estudios clínicos, epidemiológicos y bacteriológicos efectuados en diferentes provincias de Cuba, por Zuazo, Nordet, Pérez Amarillo, Soto, Trujillo, Pascual, Morén, Bringas y colaboradores, hallaron que la mayoría de las cepas de estreptococos β -hemolíticos aisladas de los exudados faríngeos de los niños estudiados (entre 5 y 14 años de edad), se clasificaron como grupos A, C, G y B. El mayor porcentaje correspondió al grupo A y el menor al B.

En dichos estudios, los mayores porcentajes de aislamiento de estreptococos del grupo A se obtuvieron en el trimestre de abril a junio, siendo significativas las diferencias encontradas con los aislamientos de otros períodos del año. Los grupos de edad que se vieron más afectados por la infección estreptocócica correspondieron a los 5 a 6 años y 9 a 10 años.

Breese señala que la infección estreptocócica presenta un pico a los 5; 6 y 7 años de edad, con una disminución después de los 10 años. Feinstein plantea que la tasa de incidencia de infección estreptocócica del grupo A disminuye a medida que aumenta la edad.

La transmisión de los estreptococos del grupo A se lleva a cabo a través del contacto directo con portadores asintomáticos, convalecientes o enfermos que se encuentran en el medio. Las vías de transmisión son: las gotitas de Flügge; las secreciones nasales de personas que albergan estos estreptococos, que constituyen la fuente más peligrosa de contaminación; los alimentos; y los objetos recién contaminados, aunque en la actualidad se considera dudosa su participación.

Los estreptococos del grupo B que se encuentran en la flora indígena de la vagina, uretra, tractos gastrointestinal y respiratorio del hombre, se relacionan estrechamente con la enfermedad infecciosa perinatal, tanto de la puerpera como del neonato. La transmisión es de madre a hijo.

La colonización de las mucosas del recién nacido es el resultado de una transmisión vertical del microorganismo a partir de la madre, tanto en el útero mediante una ruta ascendente o en el momento del parto. Este tipo de transmisión se produce aproximadamente en el 50 % o más de las mujeres colonizadas.

Se han descrito otros tipos de transmisiones mucho menos frecuentes, tales como infecciones nosocomiales producidas en cuneros y niños infectados en la comunidad sin previa colonización durante el parto.

Para el neumococo, la vía de entrada es la nasofaringe; por lo tanto, las epidemias están íntimamente relacionadas con la presencia de portadores en el medio y la ocurrencia de factores predisponentes. Los niños y los ancianos son los grupos de mayor riesgo. Las epidemias son más frecuentes en los meses del otoño y de la primavera.

PREVENCIÓN Y CONTROL

Los procedimientos de control se dirigen, fundamentalmente, a: hallazgo y tratamiento antimicrobiano temprano de las infecciones respiratorias y cutáneas por estreptococos del grupo A, quimioprofilaxis antiestreptocócica en las personas que han presentado un ataque de fiebre reumática, erradicación de los estreptococos del grupo A de los portadores, control del polvo, ventilación, filtración del aire, luz ultravioleta y pulverizaciones con aerosoles, pasteurización de la leche, profilaxis farmacológica en una madre con cultivos positivos a estreptococos del grupo B, con el fin de evitar la sepsis del neonato.

Para la prevención de la enfermedad neumocócica, es importante evitar los factores predisponentes, establecer un diagnóstico rápido e iniciar tempranamente el tratamiento antibacteriano adecuado.

Es posible la utilización de vacunas elaboradas con los polisacáridos específicos de los tipos de neumococos que con más frecuencia producen enfermedad. Son de utilidad en niños y en ancianos, debilitados o con inmunosupresión.

RESUMEN

El género *Streptococcus* está constituido por diferentes especies con factores de patogenicidad muy diversos. Muchas forman parte de la flora indígena del hombre, en distintas localizaciones y son capaces de producir enfermedad cuando se encuentran fuera de su hábitat. Otras especies son patógenas y son los agentes causales de variadas manifestaciones clínicas. Las especies que se encuentran relacionadas con la infección humana son *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. bovis*, *S. pneumoniae*, *Streptococcus viridans* y los anaerobios.

Son bacterias redondeadas, grampositivas, agrupadas en cadenas, excepto el *S. pneumoniae* que se presenta como diplococo lanceolado, encapsulado o en cadenas cortas. El diagnóstico de laboratorio resulta de utilidad para el inicio del tratamiento y con fines epidemiológicos. Son microorganismos con estructura antigénica muy compleja y productos de una gran cantidad de sustancias extracelulares. Existen varios sistemas de clasificación, uno muy útil en la práctica médica es el empleo de los grupos de Lancefield, basado en la detección de un carbohidrato grupo específico. Otro marcador importante es el reconocimiento de la hemólisis que se produce alrededor de las colonias. Se describen pruebas presuntivas que permiten la identificación de especies patógenas, con una alta sensibilidad y especificidad. Se enuncian los patrones de sensibilidad a los antimicrobianos, según el comportamiento de las diferentes especies relacionadas con la infección humana. Se describen las características epidemiológicas y las medidas de prevención y control de las infecciones estreptocócicas en el hombre.

BIBLIOGRAFÍA

- Appelbaum PC. Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: an overview. Clin Infect Dis 1992;15:77.
- Bisno AL. Medical progress: group A streptococcal infections and acute rheumatic fever. N Engl J Med 1991;325:783-93.
- Brooks GF, Butel JS, Orston LN, Jawetz E *et al.* Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 15ta ed. en español. Cap. 15. México DF: Ed. El Manual Moderno 1995:231-47.
- Campos JM, Howard BJ. Streptococci and Related Organisms. In: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF *et al.* Clinical and Pathogenic Microbiology. Chap.13. 2nd ed. St. Louis MO, EUA: Mosby-Year Book Inc, 1994:257-73.
- Caravano R (ed.). Current Research on Group A *Streptococcus*. An Excerpta Medica Monograph. Excerpta Medica Foundation, France, 1968.
- Edwards MS, Baker CJ. *Streptococcus agalactiae* (Group B *Streptococcus*). In: Mandell GL, Douglas RG (Jr), Bennett JE (eds.). Principles and practice of infectious diseases. Part III. Section E. Chap.180. 3rd ed. EUA: Churchill Livingstone Inc, 1990:1554-63.
- Gallis HA. Viridans and β -Hemolytic (Non Group A, B, and D) Streptococci. In: Mandell GL, Douglas RG (Jr), Bennett JE (eds.). Principles and practice of infectious diseases. Part III. Section E. Chap.181. 3rd ed. EUA: Churchill Livingstone Inc, 1990:1563-72.
- _____. *Streptococcus intermedius* Group (*Streptococcus anginosus*-Milleri Group). In: Mandell GL, Douglas RG (Jr) Bennett JE (eds.). Principles and practice of infectious diseases. Part III. Section E. Chap.182. 3rd ed. EUA: Churchill Livingstone Inc, 1990:1572-4.

- Hardie JM. Genus *Streptococcus*. Rosenbach 1884, 22nd. ed. In: Sneath PHA *et al.* (ed.). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 2. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986.
- Jevitz PM. *Streptococcus*. In: Barón S (ed.). Medical Microbiology. 4th ed. USA: The University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996.
- Johnson DR, Kaplan EL, Sramek J, Bicoyva R *et al.* Diagnóstico de laboratorio de las infecciones estreptocócicas del grupo A. Ginebra: Ed. Oriental Press, Organización Mundial de la Salud, 1997.
- Mufson MA: *Streptococcus pneumoniae*. In: Mandell GL, Douglas RG (Jr), Bennett JE (eds.). Principles and practice of infectious diseases. Part III. Section E. Chap.178. 3rd ed. EUA Churchill Livingstone Inc, 1990:1539-50.
- OPS-OMS. Meeting of the coordinators of the study of epidemiological surveillance of *Streptococcus pneumoniae* in latin americ. Cartagena de Indias, Colombia, 28-31 mayo 1995. Final Report. SVI/RDV1995-000016. Washington DC EUA, July 1995.
- Romero Cabello R. Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. Caps. 49 y 50. México DF: Ed. Médica Panamericana, 1999:263-76.
- Rotta J, Facklam RR. Manuel sur les méthodes de diagnostic microbiologique des infections a *Streptocoques* et de leurs sequelles.WHO/BAC/80.1. -OMS, 1980.
- Ruoff KL. Nutritionally variant streptococci. Clin Microbiol Rev 1991;4:184.
- Wannamaker LW, Matsen JM (eds.). Streptococci and Streptococcal Diseases. Recognition, Undersatanding and Management. NY EUA: Academic Press, 1972.
- Wessels MR, Kasper DL. The changing spectrum of group B streptococcal disease. N Engl J Med 1993; 328:1843-4.
- Zhuzo II., Soto N, Nordet P, Suárez M, Fandiño N. Infección estreptocócica en una población escolar primaria. Rev Cub Med Trop, mayo-agosto 1980;32:131-144.
- _____, Fernández I, Izquierdo L, Delgado J. Títulos de antiestreptolisina O en adultos sanos de Ciudad de La Habana. Rev Cub Hig Epid abril-junio 1982;20:211-22.
- _____, del Río W. Características microbiológicas de 300 cepas de estreptococos procedentes de muestras humanas. Rev Cub Hig Epid enero-marzo 1984;22:118-30.
- _____, Almaguer M, Suárez M, Manes ML. Estudio epidemiológico de un brote de nefritis aguda posestreptocócica. Rev Cub Hig. Epid., julio-septiembre, 1986; 24(3):363-9.

Capítulo

20

Enterococos

Dianelys Quiñones Pérez

INTRODUCCIÓN

Antiguamente, las especies enterocócicas pertenecían al género *Streptococcus*, debido a estudios de hibridación genética de ADN y ARN han sido clasificadas dentro de un nuevo género: *Enterococcus*, publicado en 1984 por Schleifer y Kilpper-Balz.

La especie tipo del género es *E. faecalis*, dividida, a su vez, en tres subespecies: *faecalis*, *liquefaciens* y *zymogenes*. Esta especie, junto al *E. faecium*, fueron las primeras especies transferidas al nuevo género *Enterococcus*. En ese mismo año, *E. avium* y *E. gallinarum* fueron transferidas también a dicho género; posteriormente, nuevas especies se fueron incluyendo.

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Familia : *Streptococcaceae*.

Género: *Enterococcus*.

Especies: <i>E. faecalis</i>	<i>E. mundtii</i>
<i>E. faecium</i>	<i>E. raffinosus</i>
<i>E. durans</i>	<i>E. solitarius</i>
<i>E. hirae</i>	<i>E. seriolicida**</i>
<i>E. dispar</i>	<i>E. columbae</i>
<i>E. avium</i>	<i>E. malodoratus</i>
<i>E. cecorum*</i>	<i>E. saccharolyticus</i>
<i>E. gallinarum</i>	<i>E. pseudoavium</i>
<i>E. sulfureus</i>	<i>E. casseliflarus</i>

* Habita en patos, pollos, canarios, perros, gatos, cerdos.

** Habita en peces.

Los enterococos constituyen un numeroso grupo bacteriano de la flora intestinal del humano y los animales. Hasta principios de los años 80, este comensal del tracto intestinal no era reconocido como un patógeno problemático, sus afecciones clínicas se limitaban a

cuadros de endocarditis y raros casos de meningitis. Desde finales de los años 80 e inicios de los 90, este microorganismo comenzó a emerger como uno de los más importantes agentes nosocomiales, responsable de bacteriemias, infecciones de heridas quirúrgicas e infecciones del tracto urinario. De las especies bacterianas pertenecientes al género *Enterococcus*, *E. faecalis* y *E. faecium* son las más comúnmente aisladas del ser humano, aconteciendo para un 85 a 95 % y 5 a 10 % de las afecciones clínicas respectivamente.

HÁBITAT

Los enterococos se encuentran aproximadamente en todos los animales. En el humano, son flora normal del tracto gastrointestinal (TGI), tracto genitourinario (TGU), vías respiratorias superiores, cavidad oral, piel, vagina y uretra femenina. También se hallan en las superficies del entorno ambiental, en el agua, en la vegetación, resultado de la contaminación por excrementos de animales y en aguas albañales no tratadas. En el humano, la concentración del enterococo en las heces es de 10^8 UFC/g.

Los factores microbiológicos y ecológicos que favorecen la colonización intestinal permanecen aún oscuros.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Los enterococos son células esféricas u ovoides que miden de 0,6 a 2,0 x 0,6 a 2,5 μ m; son cocos grampositivos que aparecen en par o en cadenas cortas en medio líquido; son no capsulados, no forman endosporas; son anaerobios facultativos; poseen requerimientos nutricionales complejos; son catalasa negativa, aunque algunas cepas de *E. faecalis* pueden ser positivas debido a la producción de una pseudocatalasa cuando crecen en medios que contienen sangre. Raras cepas son móviles por la presencia de flagelos. Fermentan una amplia variedad de carbohidratos con elaboración de ácido láctico sin producción de gas; la temperatura óptima de crecimiento es de 37 °C.

Todas las cepas hidrolizan leucina-b-naftilamida (LAP) y la mayoría hidrolizan L-pirrolidonil- β -naftilamida (PIR), con excepción de *E. cecorum*, *E. columbae* y *E. saccharolyticus*. Dentro de la familia *Streptococcaceae* constituyen los agentes más resistentes a la desecación y a los desinfectantes.

Toleran altas condiciones de pH: 9,6; usualmente fermentan la lactosa; rara vez reducen nitratos. El contenido de G + C del ADN es de 37 a 45 mol%. Producen, por lo general, α o γ hemólisis, excepto algunas especies que pueden mostrar β -hemólisis, como: *E. faecalis*, *E. durans* y *E. gallinarum*.

Otros aspectos microbiológicos importantes en su identificación son:

1. Crecimiento usual a temperaturas de 10 a 45 °C, tolerando valores superiores a 60 °C.
2. Crecimiento en presencia de 6,5 % de NaCl.
3. Hidrólisis de la bilis-esculina.
4. Reducción de la leche con azul de metileno.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

A diferencia de otros estreptococos, el antígeno grupo D no es un carbohidrato de pared celular. Está formado por ácido lipoteicoico asociado a la membrana citoplásmica; es un poliglicerol fosfato que contiene D-alanina y glucosa. Existen variaciones en la estructura del peptidoglucano entre las diferentes especies del grupo; *E. faecalis* contiene solamente ácido glutámico, lisina y alanina, mientras que *E. faecium* y *E. durans* también contienen ácido aspártico.

Se han reportado tres proteínas de superficies de diferentes pesos moleculares como antígenos prominentes de *E. faecalis*, las cuales parecen ser específicas de este. Anticuerpos frente a estos antígenos han sido encontrados en pacientes con endocarditis por *E. faecalis*, pero no en aquellas causadas por otros estreptococos o en distintas infecciones producidas por el mismo.

PATOGENIA

La patogenia está estrechamente relacionada con su lugar de residencia, pues las infecciones se producen a punto de partida de su invasión desde los sitios anatómicos de colonización ante la existencia de varios factores predisponentes como el uso previo de antibióticos de amplio espectro (cefalosporinas), inmunodepresión, cateterismos, sondaje vesical, diálisis peritoneal, valvulopatías, diabetes mellitus e infección por *Clostridium difficile*.

Factores de virulencia

Poco se conoce sobre los factores relacionados con la colonización, la translocación intestinal, adhesión hística, evasión de la respuesta del hospedero y la modulación de la respuesta inflamatoria.

Dentro de los factores de virulencia estudiados se encuentran:

1. Producción de citolisina.
2. Fabricación superóxida extracelular (O_2).
3. La actividad citocromo C reductasa.
4. Proteínas de superficie ESP.
5. Producción de sustancias de agregación.
6. Gelatinasa.

La citolisina es ampliamente producida por *E. faecalis*, el cual, desde un punto de vista intrínseco, es más virulento que *E. faecium*; esta se ha asociado con ruptura de membranas (células bacterianas, eritrocitos) con actividad observada a través de una zona de hemólisis en algunos tipos de agar-sangre; contribuye a la toxicidad o letalidad de infecciones en modelos murinos; está asociada con un mayor riesgo de muerte en bacteriemias nosocomiales y favorece la diseminación del enterococo en la sangre, demostrado experimentalmente en ratones.

Estudios recientes han corroborado una estrecha asociación entre la producción de radicales libres superóxidos y un aumento de la invasividad, y, por tanto, un incremento de la patogenicidad de los enterococos. Estos radicales libres son más comúnmente producidos por *E. faecalis* y enterococos móviles, además se plantea que pudieran conferirle un crecimiento ventajoso al enterococo en el *milium* intestinal, facilitando, por consiguiente, la colonización o un sobrecrecimiento; así como, quizá, le confiera habilidad a cepas invasivas para evadir las defensas del hospedero. También han estado asociados a un aumento de la respuesta inflamatoria y daño a células eucariotas.

Los mecanismos por los cuales generan O_2 extracelular son desconocidos y se requieren estudios moleculares de los genes que codifican para esta propiedad.

La actividad citocromo C reductasa en filtrados de membranas de *E. faecalis* ha sido descrita desde 1955 como uno de los productos extracelulares relacionados con la virulencia del enterococo.

Se ha descrito la capacidad de producción de sustancias de agregación o "biofilms" por parte de los enterococos, sobre todo en células vesicales; estos son altamente resistentes a la terapia antimicrobiana, lo que explica el incremento de las infecciones enterocóccicas en pacientes tratados previamente.

La resistencia antimicrobiana está íntimamente relacionada con la virulencia de los enterococos, ya que es una propiedad que acontece para la mayoría de las cepas virulentas y le confiere una gran ventaja de fácil diseminación en el ambiente hospitalario.

Colonización de la piel por enterococos

1. Facilita la transmisión del enterococo de paciente a paciente, favoreciendo la rápida diseminación del mismo en el hospital.
2. La colonización de la piel puede explicar la importancia del microorganismo como causa de bacteriemias ligadas a cateterismos vasculares e infecciones cruzadas en el hospital.
3. La frecuente resolución espontánea de bacteriemias sugiere que hemocultivos positivos pueden resultar de la contaminación de especímenes provenientes de la piel.

Resistencia del hospedero a la colonización por enterococos

1. Acción protectora de la flora anaerobia normal.
2. Mucosas intactas.
3. Secreción de ácidos grasos.
4. Motilidad intestinal.
5. Inmunidad intestinal.

La ruptura de la integridad del tracto gastrointestinal y tracto genitourinario conlleva a la invasión del torrente sanguíneo por los enterococos, por lo que es considerado un agente oportunista.

IMPORTANCIA CLÍNICA

Está dada por:

1. Rápida emergencia como uno de los más problemáticos patógenos nosocomiales.
2. Rápida resistencia a drogas antimicrobianas.

Dos tipos de enterococos causan infección:

1. Aquellos que provienen de la flora nativa del paciente, los cuales no tienen otra resistencia que no sea la intrínseca, mediada cromosómicamente y que, por lo general, no se transmiten de cama en cama.
2. Aquellos con tendencia a resistencia múltiple y son capaces de transmisión nosocomial.

Las infecciones del tracto urinario, infecciones de heridas quirúrgicas y bacteriemias, son las entidades clínicas más frecuentes producidas por este germen.

Infecciones del tracto genitourinario. Ocurren, fundamentalmente, en hombres de edad avanzada con enfermedad prostática, en pacientes sometidos a procedimientos urológicos, cateterismo vesical, anomalías estructurales renales y trasplantes renales. Las manifestaciones clínicas son similares a aquellas producidas por otras bacterias.

Bacteriemias. El 25 a 45 % de estas son polimicrobianas asociadas, principalmente, a bacilos gramnegativos y *Staphylococcus aureus*. El 75 % son nosocomiales, y el 25 a 35 % son comunitarias. Sólo se aíslan en el 5 % de los cultivos de sangre positivos. El factor de riesgo principal lo constituye la terapia prolongada con cefalosporinas y hospitalización prolongada del paciente. Con mayor frecuencia se originan a partir de heridas quirúrgicas, infecciones del tracto urinario, uso de catéter intravenoso, afecciones intraabdominales, afecciones del tracto biliar e infecciones cutáneas, y el 25 a 45 % de estas son de causa desconocida. Por lo general se presentan en personas mayores de 50 años de edad con enfermedades subyacentes.

Endocarditis. Su frecuencia de aislamiento es de 10 a 15 %, produciéndose con mayor periodicidad en pacientes hemodializados, con cardiopatías previas, afecciones colorrectales y pacientes sanos de edad avanzada. Es más habitual en los hombres.

Los enterococos también ocasionan otras enfermedades, entre las que se encuentran: infecciones del tracto biliar; septicemias con frecuencia recurrentes, sepsis ligada a catéter; abscesos intraabdominales, peritonitis recurrentes en pacientes quirúrgicos, infecciones pélvicas, neumonías.

Como enfermedades inusuales se han reportado: otitis externa, empiemas, osteomielitis vertebral, infecciones profundas del cuello, tromboflebitis mesentérica, celulitis, también han sido aislados de prótesis ortopédicas.

Los neonatos hospitalizados en las salas de Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) presentan un alto riesgo de padecer infecciones enterocócicas, no sólo los recién nacidos de bajo peso, sino también aquellos de peso normal. La adquisición en muchos de ellos puede ser maternal a partir de la colonización del tracto genital en el 50 % de los casos y se presentan en forma de meningitis, bacteriemias y septicemias.

Se han reportado infecciones humanas (endocarditis y septicemias) producidas por enterococos aislados de animales, por ejemplo, *E. cecorum*, especie aislada de pollos, vacas, caballos, gatos, patos y canarios; *E. avium*, aislado de las aves; y *E. bovis* ha originado septicemias y endocarditis relacionadas con carcinoma de colon.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Procedencia de muestras

Las muestras deben obtenerse según la naturaleza de la infección enterocócica. En infecciones humanas se aíslan de sangre, orina, exudados de heridas, líquido cefalorraquídeo (LCR), punta de catéter, líquido ascítico, esputo; vagina; pus; líquido sinovial; exudado ótico; úlceras de decúbito. Para estudios de colonización se han realizado aspirados traqueales, gástricos, exudados orofaríngeos y rectales.

Debido a que el enterococo raramente contamina especímenes de sitios estériles (fluidos corporales, sangre, LCR, líquido sinovial), su aislamiento a partir de los mismos debe considerarse infección; sin embargo, el aislamiento de exudados de superficies mucosas requiere una adecuada interpretación.

Identificación

Frotis. El examen microscópico por medio del examen directo con tinción de Gram revela cocos grampositivos en parejas o dispuestos en cadenas cortas. También se ha usado la tinción de tinta china y de cristal violeta.

Cultivo. Las muestras bajo sospecha de contener enterococos se cultivan, fundamentalmente, en agar-sangre 5 % de carnero. Existen otros medios generales como agar-chocolate, agar-tripticosa-soya y agar-infusión-cerebro-corazón con 5 % sangre de carnero.

Dentro de los medios selectivos se encuentran: el agar enterococel, caldo para *E. faecalis* (SF); el caldo estreptocócico Kenner fecal (KF) y el caldo buffer-azida-glucosa-glicerol (BAGG) para recuperar enterococos del agua, los alimentos, orina o materia fecal. Los bacilos coliformes y gramnegativos son inhibidos y los enterococos crecen produciendo un pigmento de color visible debido a la elaboración de ácido a partir de la glucosa presente.

El componente inhibidor lo constituye la azida de sodio.

La incubación se realiza durante 24 horas a una temperatura óptima de crecimiento de 35 a 37 °C.

Morfología macroscópica y microscópica: desde el punto de vista morfológico son colonias más grandes que las de los estreptococos del grupo A, menos opacas y a veces blancas brillantes semejantes a colonias de estafilococos. Pueden mostrar α o γ -hemólisis y más raramente β -hemólisis, en específico *E. faecalis* var. *zymogenes*, *E. durans* y *E. gallinarum* en sangre de caballo, conejo y humano. Recientemente se reportó una morfología inusual colonial de *E. faecalis* dada por el aspecto mucoide relacionado con la encapsulación del agente, proveniente de una infección del tracto genitourinario, el cual constituye un emergente morfotipo de muestras clínicas que dificulta la identificación de los aislamientos como especies de enterococos.

Pruebas de género

1. **Hidrólisis de la bilis-esculina:** determina la capacidad del agente de hidrolizar el glucósido esculina en esculetina y glucosa, en presencia de bilis (10 al 40 %). La esculetina reacciona con una sal de hierro para formar un complejo castaño oscuro a negro.
 - a) Positiva: presencia de un color negro a castaño oscuro en el pico de flauta.
 - b) Negativa: no se produce el ennegrecimiento del medio o ennegrecimiento de menos de la mitad del tubo después de 72 horas de incubación. Existe una modalidad rápida de la prueba con tiras reactivas impregnadas con esculina y bilis (Pathotec).
 - c) Resultados: dentro de 1 a 4 horas de la incubación.

2. *Tolerancia a 6,5 % de NaCl*: determina la capacidad del microorganismo de tolerar altas concentraciones de cloruro de sodio.
 - a) Positiva: si hay crecimiento dado por turbidez del medio, que se comprueba sembrando una asada del inóculo en una placa de agar-sangre.
 - b) Negativa: no crecimiento visible.

Pruebas de especiación (Cuadro 20.1)

Otras pruebas bioquímicas

El PIR test (L-pirrolidonil- β -naftilamida), sustrato para la pirridonilpeptidasa: después de la hidrólisis del sustrato por la peptidasa, la naftilamida resultante produce un color rojo al agregarse 0,01 % de reactivo cinamaldehído. La especificidad de la prueba es de 73 a 91 % y es positiva en las especies de enterococos, con excepción de *E. cecorum*, *E. columbae* y *E. saccharolyticus*.

Lap test (leucina- β -naftilamida), sustrato para la leucinoaminopeptidasa: es una prueba rápida de detección de dicha enzima en cultivos de bacterias y resulta positiva en especies de enterococos.

Métodos bioquímicos comerciales: API 20STREPP (BioMérieux).

Técnicas de diagnóstico rápido

Se dispone de pruebas serológicas como la prueba de aglutinación de partículas de látex (método serológico más usado), la contrainmunolectroferesis y un sistema ELISA para el diagnóstico serológico de *E. faecalis*, el cual se ha usado, además, para valorar respuesta al tratamiento.

Técnicas de biología molecular

Las investigaciones epidemiológicas de las infecciones enterocócicas han sido limitadas por la carencia de sistemas de tipificación suficientemente discriminativos y altamente reproducibles.

Métodos clásicos de tipificación se han puesto en práctica como el biotipaje, perfiles de resistencia antimicrobiana, tipaje por bacteriocinas y fagotipaje, y aunque en determinados momentos han brindado una útil información, por lo general consumen mucho tiempo, presentan problemas con la reproducibilidad, la discriminación entre cepas, la interpretación y la disponibilidad de reactivos, por lo que su valor en los estudios epidemiológicos ha sido limitado.

Diferentes métodos de biología molecular se han usado en los estudios de epidemiología molecular de especies de enterococos, los que constituyen hoy en día una herramienta fundamental en la tipificación y caracterización de las cepas, al crear nuevos horizontes en la epidemiología de las infecciones intrahospitalarias por este germen.

Dentro de estos métodos se encuentran:

1. Reacción en cadena de la polimerasa (RCP) aplicada a muestras fecales.
2. *DNA-fingerprinting*.
3. Hibridación ADN-ADN.
4. Electroforesis en campo pulsado (PFGE).
5. REA (análisis por endonucleasas de restricción).
6. Ribotipaje: con sondas ARNr de *E. coli*.
7. Secuenciación de genes de ARNr 16 S de enterococos aplicada a la identificación de especies.

La electroforesis en campo pulsado ha sido muy útil en la determinación de diversidad de patrones genéticos de cepas nosocomiales de enterococos, demostrando una nueva forma de transmisión (exógena) además de la endógena de estas cepas, por lo que constituye la técnica *gold standard* en los estudios epidemiológicos de infecciones nosocomiales enterocócicas.

Cuadro 20.1 Características diferenciales de especies de enterococos

Pruebas de identificación	<i>E. malodoratus</i>	<i>E. mundtii</i>	<i>E. pseudoavium</i>	<i>E. raffinosus</i>	<i>E. saccharolyticus</i>	<i>E. serotocida</i>	<i>E. solitarius</i>	<i>E. avium</i>	<i>E. casseliflavus</i>	<i>E. cecorum</i>	<i>E. dispar</i>	<i>E. durans</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. gallinarum</i>	<i>E. hirae</i>
Motilidad	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	(-)	(-)	-	-
Crecimiento a:																
45°C	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
50°C	-	-	ND	ND	-	-	ND	-	-	ND	-	-	(-)	(+)	-	-
Crecimiento en :																
6,5% NaCl	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
0,04% Telurito	-	-	ND	ND	ND	-	ND	-	+	ND	ND	-	+	-	(+)	-
0,01% Tetrazolium	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	-	+	-	+	ND
0,1% Leche azul de metileno	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	d	ND	d	ND	+	+	ND	d	ND
Pigmentación Amarilla	-	+	ND	ND	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	ND
Hemólisis	ND	-	α	ND	-	α	ND	α	ND	α	ND	α, β	(β)	α	α,β	-
Producción H ₂ S	+	-	ND	ND	ND	-	ND	+	-	ND	-	-	ND	ND	-	ND
Amonio a partir de arginina	ND	ND	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	-	-	ND	ND	+	+	ND
Hidrólisis de Arginina	-	+	-	-	-	+	+	-	(+)	-	+	+	+	+	+	+
Hidrólisis de Hipurato	d	-	+	-	-	-	ND	d	-	-	D	d	(+)	+	+	-
Reacción V-P	-	+	+	+	-	+	d	-	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	+
Acido de :																
D-Xilosa	d	+	ND	ND	-	-	-	-	+	-	ND	-	-	-	+	-
L-Ramnosa	+	(+)	ND	ND	-	-	-	+	(+)	-	ND	-	d	-	-	-
Sacarosa	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	d	+	+
Lactosa	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Melibiosa	+	+	-	+	+	-	ND	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rafinosa	+	(+)	-	+	+	-	ND	-	+	+	+	-	-	-	+	d
Melicitosa	-	-	-	ND	+	-	+	+	-	+	ND	-	(+)	-	-	(-)
Glicerol	d	d	-	+	-	-	ND	+	-	-	+	-	+	+	+	(-)
Adonitol	+	-	ND	ND	-	-	-	+	-	-	ND	-	-	-	-	-
Sorbitol	+	d	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	(+)	-	-	-
Manitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	(-)	+	(+)	(+)	-
Grupo serológico de Lancefield	D	D	ND	(D)	No D	No D	D	Q(D)	D	No D	No D	D	D	D	D	D

Símbolos: +, 90% de las cepas son positivas; (+), 80-89% de las cepas son positivas; d, 21-79% de las cepas son positivas; (-), 11-20% de las cepas son positivas; -, 90% de las cepas son negativas. α, usualmente α-hemolíticas; (α), a veces α-hemolíticas; β, usualmente β-hemolítica; (β), a veces β-hemolíticas; α,β, puede ser α o β-hemolítica; D, determinado; ND, no determinado; Q(D), grupo Q pero puede reaccionar con grupo D.

Tomado de : Holt JG, Kreig NR, Smath PHA, Staley JT and Williams ST. Gram positive cocci. En Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9 ed. Baltimore. Editorial Williams & Wilkins.

Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana

Según las normas del NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*), las técnicas recomendadas para la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana en especies de enterococos son:

1. Prueba de difusión por disco.
2. Determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM).

Existen también otros métodos como: agar "screen" para la vancomicina E-test; MicroScan; Vitek GPS-TA y el GPS-101.

La prueba de difusión por disco se basa en la formación de un halo de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de un disco impregnado con el antimicrobiano a probar. Los diámetros de inhibición pueden correlacionarse con las CIM obtenidas por los métodos de dilución.

Las técnicas de dilución en caldo (CIM) se emplean para medir en forma cuantitativa la actividad *in vitro* de un agente antimicrobiano contra la bacteria. Puede ser por dos métodos: microdilución en placa y microdilución en tubo.

Prueba épsilon o E-test

Esta prueba es muy usada para determinar susceptibilidad a la vancomicina. Se trata de una modificación de la prueba de determinación de susceptibilidad antimicrobiana por difusión con discos. La prueba se basa en el uso de tiras o "épsilonómetros" conformadas por un soporte de 5 x 150 mm, el cual contiene un gradiente exponencial continuo de antibiótico inmovilizado en uno de sus lados y una escala interpretativa en el otro. El gradiente de antibiótico cumple un amplio rango de concentración correspondiente aproximadamente a 20 diluciones dobles de CIM. Estas concentraciones están diseñadas para corresponder con los rangos de CIM clínicamente relevantes con los puntos de corte correspondientes a cada antimicrobiano.

A diferencia de la técnica de Kirby-Bauer, en vez de observar una zona circular de inhibición, se aprecia una zona elíptica. La concentración mínima del antibiótico se determina en la escala, en el punto en el cual el crecimiento se hace más difuso o se inhibe.

Este sistema ofrece una lectura más precisa que las lecturas en logaritmos de los métodos tradicionales debido al amplio rango de CIM y los intervalos de concentración de los antibióticos impresos en la escala.

EPIDEMIOLOGÍA

La incidencia de las infecciones enterocócicas se ha incrementado notablemente en la última década. El enterococo vancomicina resistente (EVR) ha emergido como el enterococo más problemático causante de infecciones intrahospitalarias desde 1990, incrementándose de forma significativa del 10 a 15 % de todos los aislamientos enterocócicos; esto constituye un riesgo para la salud de los pacientes hospitalizados e inmunocomprometidos. El EVR se ha diseminado rápidamente en los Estados Unidos, aumentando el porcentaje de infección nosocomial entre 1989-1993 (0,3 al 7,9 %). A finales de 1998 reportaron que anualmente en este país se producen 110 000 infecciones del TGU; 25 000 bacteriemias; 40 000 infecciones de heridas y 1 100 casos de endocarditis por enterococos, la mayoría de las infecciones ocurren en hospitales.

En Japón y en algunas localidades de Estados Unidos y España, el enterococo ha sido considerado la segunda causa de infección nosocomial. La colonización-infección por enterococo multidrogorresistente (EMDR) sucede a nivel mundial, esta multidrogorresistencia le confiere al enterococo una ventaja selectiva dentro del ambiente hospitalario.

La mortalidad por infección enterocócica se dificulta porque con frecuencia se trata de infecciones polimicrobianas, no obstante, se reportan cifras de 7 al 50 % de casos fatales. El índice de letalidad es de 30 a 60%.

La transmisión del enterococo ocurre de persona a persona, lo cual ha cobrado gran importancia en el origen de las infecciones nosocomiales, ya que portadores transitorios de

enterococos en las manos del personal médico han sido un modo importante de transmisión en varias epidemias hospitalarias e interhospitalarias; esta transmisión exógena se ha incrementado ante la contaminación ambiental por enterococo vancomicina resistente, así como por la transmisión a través de dispositivos médicos, camas y ropas contaminadas.

La transmisión de los enterococos de los animales al hombre está tomando cada vez más mayor interés, ya sea por transmisión directa del agente o por transmisión de genes de resistencia por transferencia horizontal, demostrados por estudios genéticos.

La epidemiología de los enterococos ha experimentado cambios en los últimos tiempos y los enterococos en la comunidad pasan a ser otro capítulo de interés. En Europa se ha reportado al enterococo gentamicina resistente como flora normal fecal. También se han aislado enterococos resistentes a glicopéptidos en individuos que nunca antes habían recibido tratamiento glicopeptídico. *E. faecium*, resistente a la vancomicina, se ha reportado no sólo en pacientes hospitalizados, sino también en la población sana y animales.

PREVENCIÓN Y CONTROL

1. Vigilancia nacional de infecciones nosocomiales.
2. Promoción y aplicación de medidas antisépticas y de desinfección ambiental.
3. Uso de dispositivos menos invasivos.
4. Empleo de técnicas quirúrgicas invasivas mínimas para minimizar el daño de las barreras defensivas del hospedero (piel y membranas mucosas).
5. Establecer programas de control sobre uso de antibióticos y control de la colonización. Estudios epidemiológicos moleculares: ayudan a comprender mejor los factores principales en la emergencia de cepas resistentes.
6. Investigaciones de rutina para EVR y EMDR entre los aislamientos clínicos (pacientes con estadía hospitalaria superior a una semana).
7. Activar la vigilancia para EVR y EMDR en las unidades de cuidados intensivos (UCI).
8. Aislamiento de contactos para minimizar la transmisión de persona-persona.
9. Restricción oral y parenteral de la vancomicina.
10. Descontaminación rigurosa de las áreas de contactos y pacientes.
11. Lavado sistemático de las manos del personal médico y paramédico.

RESISTENCIA ENTEROCÓCCICA Y TRATAMIENTO

El principal problema de las especies del género *Enterococcus* es su resistencia a los agentes antimicrobianos; esta puede ser de dos tipos: intrínseca y adquirida.

Resistencia intrínseca: es característica de la especie y derivada de sus genes cromosómicos, existiendo bajos niveles de resistencia para los siguientes antimicrobianos:

Resistencia antimicrobiana intrínseca de enterococos

Resistencia a:	Penicilinas	Cefalosporinas
	Clindamicina	Polimixín
	Aztreonam	Aminoglucósidos
	Trimetoprim-sulfametoxazol	

- Las CIMs de penicilinas, ampicilina, mezlocilina son más altas que para otros estreptococos
- Tolerancia a efectos bactericidas de, virtualmente, todos los agentes antimicrobianos
- Bajos niveles de producción de 6'-acetiltransferasa por cepas de *E. faecium*, confiriendo más resistencia a tobramicina, netilmicina y sisomicina

Tomado de: Stein JH. Bacterial Disease. *In*: Internal Medicina. 4 th ed. 1994:2087-90.

Esto trae como consecuencia:

1. Límite de opciones terapéuticas.
2. Se requiere de altas dosis de penicilinas para el tratamiento de infecciones graves.

3. Es necesario el uso de combinaciones sinérgicas (Ejemplo: ampicilina más gentamicina) para lograr efecto bactericida.
4. No se logra un efecto sinérgico bactericida contra *E. faecium* ante la combinación de ampicilina o vancomicina más tobramicina, netilmicina y sisomicina.

Resistencia adquirida: puede ser resultado de una diseminación clonal, plasmídica o por transposones, y es debida, mayormente, a la producción de enzimas que inactivan al agente antimicrobiano o a cambios en los sitios dianas moleculares de este.

Resistencia antimicrobiana adquirida de enterococos	
Agente antimicrobiano	Mecanismos de resistencia
Aminoglucósidos	
Estreptomina	Inducción de resistencia ribosomal
Kanamicina	Producción de adeniltransferasa
	Producción de fosfotransferasa
Gentamicina, kanamicina, tobramicina, amikacina	Producción de fusión proteica con actividad fosfotransferasa y amikacina acetiltransferasa
β-lactámicos	
Penicilina G, ampicilina, piperacilina y mezlocilina	Producción de β-lactamasa
Penicilina, ampicilina e imipenen	Alteración de la 5-proteína fijadora de penicilina en <i>E. faecium</i>
Glicopéptidos	
Vancomicina, teicoplanina	Producción de proteína asociada a membrana que previene el acceso de la droga a su sitio diana
Vancomicina	Está asociado con la producción de diferentes proteínas de membranas no transferibles
Otras	
Cloranfenicol	Producción de cloranfenicol-acetiltransferasa
Eritromicina	Metilación del ADN ribosomal
Tetraciclinas	Protección del ribosoma de la inhibición por tetraciclinas
	Inducción de un sistema de transporte activo para remover las tetraciclinas de la célula

Tomado de: Stein J H. Bacterial Disease. *In:* Internal Medicine. 4th ed. 1994:2087-90.

Para el tratamiento de las infecciones enterocócicas se ha usado convencionalmente la combinación de un antibiótico beta-lactámico (penicilina, ampicilina) más un

aminoglucósido (gentamicina o estreptomina), lo que ejerce un efecto sinérgico y provoca la muerte del microorganismo; pero si hay altos niveles de resistencia a aminoglucósidos, $MIC \geq 2\ 000\ \mu\text{g}/\text{mL}$, no se produce el efecto sinérgico y, por tanto, no muere el germen. Estas combinaciones se requieren ante infecciones severas cuando se necesita del efecto bactericida en el sitio de la infección. La resistencia a la penicilina o a la vancomicina y el aumento de los niveles de resistencia a los aminoglucósidos, es la problemática más importante en los últimos años.

Ha aumentado la resistencia a la penicilina y a la ampicilina en *E. faecium*, lo que llevó al uso de la vancomicina para tratar las infecciones por esta especie, presentándose resistencia a esta a mediados y finales de los años 80, primero en Europa y después en Estados Unidos, donde su incidencia ha ido creciendo en los últimos años cada vez más.

El glicopéptido vancomicina es el principal fármaco alternativo a la penicilina para el tratamiento de la infección por enterococos. La resistencia a la vancomicina parece ser más común en *E. faecium*. Primero estuvo mediada plasmídicamente y con posterioridad se ha reportado la transferencia horizontal de genes vancomicina resistente y por transposones (Tn1546).

La resistencia a glicopéptidos en enterococos es fenotípica y genotípicamente heterogénea. Se han descrito diferentes genotipos de resistencia. El fenotipo Van A se manifiesta por la resistencia de mayor grado a la vancomicina y a la teicoplanina. El fenotipo Van B puede inducir resistencia a la vancomicina, pero confiere susceptibilidad a la teicoplanina. Las cepas con Van C muestran resistencia intermedia a moderada a la vancomicina. Este gen Van C es constitutivo en especies como *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* y *E. flavescens*. El fenotipo Van D se manifiesta por resistencia moderada a la vancomicina y resistencia de menor grado o susceptibilidad a la teicoplanina. Recientemente se ha comunicado la existencia de un quinto genotipo de resistencia a glicopéptidos denominados Van E. Este genotipo confiere resistencia de nivel medio sólo a vancomicina.

Estos glicopéptidos interfieren con la síntesis de la pared celular en las bacterias grampositivas por la interacción con el grupo D-alanil-D-alanina (D-Ala-D-Ala) de las cadenas del pentapéptido de los precursores del peptidoglucano (Cuadro 20.2).

Nuevos antibióticos están bajo investigaciones: fluoroquinolonas, estreptograminas, glicopéptidos semisintéticos y se ha usado la clinafloxacin con potencia mejorada para las infecciones enterocócicas comparada con la ciprofloxacina.

El tratamiento de elección para las endocarditis consiste en teicoplanina y ampicilina + sulbactam.

Las cefalosporinas no son efectivas: la expresión clínica es limitada y cepas de *E. faecium* han sido resistentes, pero su utilidad se ha demostrado en infecciones severas causadas por EVR en pacientes alérgicos a las penicilinas.

Se ha usado el quinupristín-dalfopristín: combinación de estreptograminas A y B que inhiben la síntesis proteica; es efectiva contra las cepas de *E. faecium* vancomicina resistente, pero *E. faecalis* es uniformemente resistente a estas. Su actividad es sólo bacteriostática, lo cual favorece el surgimiento de resistencia, por lo que su papel es limitado en las infecciones EMDR.

Nuevas oxazolidonas y gliciliclinas han mostrado una potente actividad contra el enterococo multidrogorresistente, pero esperan por pruebas futuras.

Cuadro 20.2. Agentes antimicrobianos frente a la infección enterocócica

Tipos	Actividad
Aminoglucósidos	Activos sólo en sinergismo con β -lactámicos
Gentamicina	Actividad variable, siendo superior la gentamicina
Amikacina	
Netilmicina	
Tobramicina	
Penicilinas	
Ampicilina/Amoxicilina	Sí
Penicilina	Sí
Piperacilina	Sí
Ticarcilina	Pobre
Carbenicilina	Pobre
Meticilina	No
Nafcilina	No
Oxacilina	No
Glicopéptidos	
Teicoplanina	Sí
Vancomicina	Sí
Carbapenen	
Imipenen	Sí
Quinolonas (exclusivamente para infecciones del tracto urinario)	
Ciprofloxacina	Sí
Lomefloxacina	Sí
Ofloxacina	Sí
Macrólidos	
Azitromicina	Pobre
Claritromicina	Pobre
Eritromicina	Pobre
Cefalosporinas	No
Monobactámicos	
Aztreonan	No

Tomado de: Glatt AE. VRE: source for the 1990s. Hospital Medicine, 1995, January 15-23.

RESUMEN

Los enterococos constituyen un numeroso grupo bacteriano de la flora intestinal del humano y los animales, incluidos en el nuevo género *Enterococcus* desde 1984. Hasta principios de los años 80, este germen no era reconocido como un problemático patógeno. Desde finales de los años 80 y principio de los 90, este microorganismo comenzó a emerger como uno de los más importantes patógenos nosocomiales, responsable de bacteriemias, infecciones de heridas quirúrgicas e infecciones del tracto urinario. De las especies bacterianas pertenecientes al género *Enterococcus*, *E. faecalis* constituye la especie tipo y junto al *E. faecium* son los más comúnmente aislados del ser humano, aconteciendo para un 85 a 95 % y 5 a 10 % de las afecciones clínicas respectivamente.

Son cocos grampositivos que se caracterizan, fundamentalmente, por crecer en presencia de 6,5 % de NaCl, e hidrolizar la bilis-esulina.

El principal problema de las especies del género *Enterococcus* consiste en su resistencia intrínseca a las diferentes drogas antimicrobianas y su gran capacidad para adquirir la misma, haciéndose cada vez más carentes las opciones terapéuticas para tratar sus infecciones. Para el tratamiento de las mismas se ha usado convencionalmente la combinación de un antibiótico β -lactámico (penicilina, ampicilina) más un aminoglucósido (gentamicina o estreptomycin), lo que ejerce un efecto sinérgico y provoca la muerte del microorganismo.

La resistencia a la penicilina o a la vancomicina, el aumento de los niveles de resistencia a los aminoglucósidos y la multidrogorresistencia, es la problemática más importante en los últimos años.

Los estudios de biología molecular constituyen una herramienta fundamental en la tipificación y caracterización de cepas de enterococos. La electroforesis en campo pulsado es el método *gold standard* para dichas investigaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Bogo L, Ahrens P, Dons L, Jones RN et al. Molecular Analysis of Tn1546 in *Enterococcus faecium* Isolated from Animals and Humans. *J Clin Microbiol* 1998;36(2):437-442.
- Bottone EJ, Patel L, Patel P, Robin T. Mucoïd Encapsulated *Enterococcus faecalis*: An Emerging Morphotype Isolated from Patients with Urinary Tract Infections. *Diag Microbiol Infect Dis* 1998;31:429-30.
- Caballero FJ, Cisneros JM, Luque R et al. Comparative Study of Bacteremias Caused by *Enterococcus* spp. With and without High-Level Resistance to Gentamicin. *J Clin Microbiol* 1998;36(2):520-5.
- Campos JM, Howard BJ. Streptococci and Related Organisms. In: Howard BJ, Keiser JF, Weissfeld AS, Smith TF et al (eds.). *Clinical and Pathogenic Microbiology*. 2nd ed. St Louis: Mosby, 1993.
- Coudron PHE, Glen MC, Facklam RR, Spadora AC et al. *Streptococcus faecium* Outbreak in a Neonatal Intensive Care Unit. *J Clin Microbiol* 1984;20:1044-8.
- Dever LL, China C, Eng Hk et al. Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* in a Veterans Affairs Medical Center: Association with Antibiotic Usage. *AJIC* 1998;26(1):40-6.
- Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. Detection of Glycopeptide Resistance Genotypes and Identification to the Species level of Clinically Relevant Enterococci by a PCR. *J Clin Microbiol* 1995; 33(1): 24-7.
- Elsner HA, Drews D, Burdelsky M, Kaulfers PM. Recurrente Septicemias with *Enterococcus faecium*. *Infection*, 1997,mar-apr;25(2):127-8.
- Felmingham D, Wilson APR, Quintana AI, Gruneberg RN. *Enterococcus* Species in Urinary Tract Infection. *Clin Infect Dis* 1992;15:295-301.
- Glatt AE. VRE: source for the 1990s. *Hospital Medicine*, 1995,january:15-23.
- Holt JG, Kreig NR, Smath PHA et al. Gram Positive cocci. In: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Baltimore: Ed. Williams & Wilkins, 1995:527-51.
- Huycke MM, Sahn DF, Gilmore MS. Multiple-Drug Resistant Enterococci: The nature of the Problem and an Agenda for the Future. *Emerg Infect Dis* 1998;4(2):239-48.
- Ike Y, Hashimoto H, Clewell DB. Hemolysin of *Streptococcus faecalis* Subspecies *zymogenes* contributes to Virulence in Mice. *Infect Immun* 1984;45(2):528-30.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. *Estreptococos*. En: *Manual de Microbiología Médica*. 16ta ed. México D.F.: Ed. El Manual Moderno, 1999:249-65.
- Jensen LB, Ahrens P, Dons L, Jones RN et al. Molecular Analysis of Tn1546 in *Enterococcus faecium* Isolated from Animals and Humans. *J Clin Microbiol* 1998;36(2):437-42.
- Jett BD, Atkuri RV, Gilmore MS. *Enterococcus faecalis* Localization in Experimental Endophthalmitis: Role of Plasmid- Encoded Aggregation Substance. *Infect Immun* 1998;66(2):843-48.
- Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, Janda WM et al. *Diagnóstico microbiológico*. 3ra ed. Argentina: Ed. Médica Panamericana, 1992:412-52.
- Kreft B, Schramm U, Wirth R. Aggregation Substance of *Enterococcus faecalis* Mediates Adhesion to Cultured Renal Tubular Cells. *Infect Immun* 1992;60(1):25-30.
- Lucas GM, Lechtzin N, Wonder D, Yay LL et al. Vancomycin-Resistance and Vancomycin-Susceptible Enterococcal Bacteremia: Comparison of Clinical Features and Outcomes. *Clin Infect Dis* 1998;26:1127-33.
- Ma X, Kudo M, Takahashi A et al. Evidence of Nosocomial Infection in Japan Caused By High-Level Gentamicin-Resistant *Enterococcus faecalis* and Identification of the Pheromone-Responsive Conjugative Plasmid Encoding Gentamicin Resistance. *J Clin Microbiol* 1998;36:2460-64.
- Mac Fadden J. *Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica*. Buenos Aires: Ed. Panamericana. Viamonte 2164, SP.
- McDonald LC, Kuehnert MJ, Tenover FC, Jarvis WR. Vancomycin-Resistant Enterococci Outside the health -Care Setting: Prevalence, Sources, and Public Health Implications. *Emerg Infect Dis* 1997; (3):311-7.
- Morrison D, Woodford N, Barrett SP et al. DNA Banding Pattern Polymorphism in Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* and Criteria for Defining Strains. *J Clin Microbiol* 1999;37(4):1084-91.
- Murray BE. Diversity among Multidrug-Resistant Enterococci. *Emerg Infect Dis* 1998;4(19):37-47.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. NCCLS document M2-A6. Villanova, Pennsylvania. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999.

- . Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. NCCLS document M7-A4. Villanova, Pennsylvania. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999.
- Neuman K, Cox D, Bullough K. Transmisión de vancomycin-resistente *Enterococcus* among family members: a case study. *J Community-Health-Nurs* 1998;15(1):9-20.
- Pescos de Ruiz A. Estreptococos. En: Basualdo JA, Coto CE, Alberto de Torres R. *Microbiología Biomédica*. Buenos Aires: Ed Atlante S.R.L., 1996.
- Reid G, Howard L. Effect on Uropathogens of Prophylaxis for Urinary Tract Infection in Spinal Cord Injured Patients: preliminary study. *Spinal Cord* 1997;35:605-7.
- Satake S, Clark N, Rimland D et al. Detection of Vancomycin-Resistant Enterococci in Fecal Samples by PCR. *J Clin Microbiol* 1997;35:2325-9.
- Shorrock P, Lambert PA, Aitchison EJ, Smith EG et al. Serological Response in *Enterococcus faecalis* Endocarditis Determined by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *J Clin Microbiol* 1990;28(2):195-200.
- Stein JH. Bacterial Disease. *In: Internal Medicine*. 4th ed. 1994:2087-90.
- Thal L, Donabedian S, Robinson-Dunn B, Chow JW et al. Molecular Analysis of Glycopeptide-Resistant *Enterococcus faecium* Isolated Collected from Michigan Hospitals Over a 6-Year Period. *J Clin Microbiol* 1998;36(11):3303-8.
- Toye B, Shymanski J, Bobrowaska M et al. Clinical and Epidemiologic Significance of Enterococci Intrinsically Resistant to Vancomycin (Possessing the van C Genotype). *J Clin Microbiol*, 1997;35(12):3166-9.
- Weinstein RA. Nosocomial Infection Update. *Emerg Infect Dis* 1998;4(3):416-19.
- Weniger HC, Aarestrup FM, Bogo L et al. Use of Antimicrobial Growth Promoters in Food Animal and *Enterococcus faecium* Resistance to Therapeutic Antimicrobial Drugs in Europe. *Emerg Infect Dis* 1999;5(3):329-35.
- Willett PH. *Streptococcus pneumoniae*. *In: Joklik KW, Willett PH, Amos B, Welfert MC. Zinsser Microbiology*. 20 th ed. California: Appleton & Lange, 1992:432-42.



Capítulo

21

Bacilos grampositivos no esporulados: *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Listeria* y *Erysipelothrix*

Teresita A. Leiva Sánchez

INTRODUCCIÓN

Los bacilos grampositivos que no forman esporas son un grupo variado de bacterias. Muchos miembros del género *Corynebacterium*; y sus equivalentes anaerobios, las especies del género *Propionibacterium*, forman parte de la flora normal de la piel y las membranas mucosas del hombre. En términos quimiotaxonómicos, el género *Corynebacterium* está estrechamente relacionado con los géneros *Rhodococcus*, *Nocardia* y *Mycobacterium*. Otras corinebacterias se encuentran en animales y plantas. El miembro más importante del grupo, que incluye 16 especies, es el *Corynebacterium diphtheriae*, el cual produce una potente exotoxina causante de la difteria humana. *Listeria monocytogenes* y *Erysipelothrix rhusiopathiae* se hallan en su mayoría en animales y ocasionalmente pueden causar enfermedad grave en el hombre.

CORYNEBACTERIUM DIPHTERIAE

La causa y el modo de transmisión de la difteria fueron establecidos muy temprano; su modo de prevención fue subsecuentemente desarrollado con éxito al aplicar la inmunización con el correspondiente toxoide. El término difteria viene del griego *diphthera*: piel o membrana, haciendo alusión a la pseudomembrana localizada en la orofaringe y formada por fibrina, bacterias y leucocitos. En 1883 el agente fue descrito por Klebs en frotis coloreados a partir de membranas diftéricas y un año después fue cultivado por Loeffler, que reprodujo la infección en animales.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Las corinebacterias (del griego *coryne*: palo, garrote) son bacilos grampositivos que miden de 1 a 1,5

A graphic featuring the word 'Capítulo' in a purple serif font above the number '22' in a larger purple serif font. The text is set against a light yellow, oval-shaped background with a subtle texture. A thin purple horizontal line extends from the right side of the oval.

Capítulo

22

Bacilos grampositivos esporulados aerobios: *Bacillus*

Teresita A. Leiva Sánchez

INTRODUCCIÓN

El género *Bacillus* está compuesto por más de 40 especies de bacilos grampositivos, esporulados, grandes, que crecen mejor en condiciones aerobias. La mayoría de las especies son saprófitas y se encuentran en el suelo, agua, vegetales y aire. La especie de mayor importancia patogénica es *B. anthracis*, agente etiológico del ántrax o carbunco, una enfermedad primaria del ganado, que puede afectar al hombre de manera ocasional, asociada al trabajo de veterinarios, granjeros y agricultores. La especie que se aísla con mayor frecuencia es *B. cereus*, el cual puede estar relacionado con brotes de intoxicación alimentaria por la producción de una enterotoxina. En raras ocasiones puede asociarse a meningitis, endocarditis, conjuntivitis o gastroenteritis, en individuos inmunocomprometidos. *B. cereus* y *B. subtilis* a menudo son aislados como contaminantes de medios de cultivo.

BACILLUS ANTHRACIS

Fue el primer microorganismo que se relacionó con enfermedad al ser aislado de la sangre de ovejas con ántrax en 1850 y luego aislado en cultivo puro por R. Koch en 1877. En 1881, Pasteur realizó el primer ensayo de inmunización empleando bacilos atenuados por crecimiento a 42° C en cabras y ovejas, que luego fueron inoculadas con cepas virulentas, demostrando la protección conferida.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Las células típicas miden $1 \times 3-4 \mu\text{m}$, tienen terminaciones cuadradas y se disponen en largas cadenas. Poseen esporas centrales que no se observan en microorganismos aislados de animales vivos y son inmóviles. En frotis de tejidos infectados aparecen como organismos aislados o en cadenas cortas.

Cultivo. Las colonias de *B. anthracis* son redondas, blanco-grisáceas, rugosas y con apariencia de "vidrio no pulido" o "cabeza de medusa" a la luz transmitida. No son habi-

tualmente hemolíticas en agar-sangre (al contrario de otras especies saprófitas). Licúan la gelatina y su crecimiento mediante inoculación por punción tiene la apariencia de "pino invertido".

Características del crecimiento. El bacilo del ántrax se cultiva en medios nutritivos habituales y aunque es capaz de crecer en condiciones de anaerobiosis, crece mejor y produce esporas en presencia de oxígeno. Los requerimientos nutricionales incluyen tiamina y ciertos aminoácidos. El uracilo, la adenina, guanina y el magnesio estimulan el crecimiento de muchas cepas. La mayoría fermentan el manitol, la glucosa, la sacarosa y la maltosa.

Las esporas del ántrax son relativamente resistentes al calor y a los desinfectantes químicos. Se destruyen por ebullición durante 10 minutos y en calor seco a 140 °C durante 3 horas. Permanecen viables durante meses en la piel de animales y durante años en tierra seca.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

La sustancia capsular de *B. anthracis*, constituida por un polipéptido de alto peso molecular de ácido D-glutámico, es un hapteno. Hay dos grupos importantes de antígenos: antígenos somáticos y antígenos componentes de la exotoxina. Entre los primeros se encuentra, además del polisacárido de la pared celular, otro polisacárido capsular, tipospecífico (polipéptido de ácido D-glutámico). La presencia de cápsula en cepas virulentas aparece en tejidos afectados o en incubación con CO₂ y medios con bicarbonato y suero. La producción de cápsula depende de un plásmido (pXO2) que es transferido mediante transducción a partir de cepas encapsuladas. La cápsula ejerce un efecto antifagocítico y protege al microorganismo de la lisis mediada por anticuerpos. El segundo grupo de antígenos (componentes de la exotoxina), depende de un plásmido termosensible (pXO1). La toxina consiste en una mezcla de tres proteínas inmunogénicas: el "factor de edema" (FE), el antígeno "protector" (AP) y el "factor letal" (FL), todas de PM de más de 80 000.

Ninguna por sí sola muestra actividad biológica, de manera que una de ellas (AP) se une al receptor de la célula, permitiendo que se una también el FE, que contiene una adenilato-ciclasa. Se desconoce la actividad enzimática del FL. Las cepas virulentas pueden atenuarse en el laboratorio mediante cultivo a 42,5 °C. Sólo las cepas que producen tanto cápsula como toxina son altamente patogénicas.

PATOGENIA

El ántrax es, primariamente, una enfermedad del ganado lanar, bovino, equino y de muchos otros animales. El hombre se infecta de modo accidental mediante la penetración de esporas a través de la piel o mucosas lesionadas y más raramente por aspiración. En los animales, la vía es la ingestión de esporas presentes en suelos contaminados o en vegetales espinosos o irritantes. Muchos mamíferos y aves pueden adquirir la enfermedad de forma natural en reservorios salvajes. La forma más común de ántrax en humanos es la cutánea o "pústula maligna", propiciada por escarificaciones o rasguños, aunque las esporas pueden adquirirse por vía de la inhalación. Las esporas germinan en los tejidos del sitio de entrada y el crecimiento de las células vegetativas da lugar a la formación de una pápula que evoluciona a vesícula, a pústula y finalmente a úlcera necrótica con edema gelatinoso y congestión. Los bacilos se propagan por vía linfática a la sangre, donde se multiplican.

El ántrax pulmonar surge abruptamente, con disnea, fiebre y dolor en el pecho, linfadenopatía mediastinal, edema pulmonar y hemorragia. La forma intestinal resulta de la ingestión de alimentos de origen animal poco cocinados. El ántrax orofaríngeo es otra forma rara de la enfermedad que remeda a la difteria, con dificultad en la deglución y compromiso respiratorio.

TOXINA

La toxina del ántrax desempeña un papel importante en los estadios iniciales de la infección, mediante daño directo a los fagocitos. Los animales cuyos leucocitos resisten este efecto son menos susceptibles a la infección. El sitio primario de acción de la toxina es desconocido. La muerte sobreviene repentinamente, por fallo cardíaco, incremento de la

permeabilidad vascular, shock, hipoxia y fallo respiratorio con trombosis capilar pulmonar y depresión del Sistema Nervioso Central. Los animales que sobreviven, son resistentes a la reinfección. La inmunidad parece deberse a la producción de anticuerpos contra la toxina y el polipéptido capsular. Hay especies altamente sensibles, en tanto que otras son muy resistentes. Este hecho se ha atribuido a la actividad de los leucocitos, a la temperatura del cuerpo y a la acción bactericida del plasma por la existencia de algunos polipéptidos que matan al bacilo.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Muestras. Líquidos de la lesión local (pápulas y vesículas), pus, sangre (la muestra más útil) y esputo (poco útil). Las muestras ambientales, de preferencia, deben ser previamente descontaminadas por agitación en detergente (Tween 80) durante 1 hora y luego centrifugadas para utilizar el "pellet" como inóculo. El trabajo con *B. anthracis* se llevará a cabo en gabinete de seguridad biológica. Se recomienda el agar-sangre para muestras de sitios estériles y el agar feniletíl-alcohol para muestras de sitios contaminados.

Examen directo. A partir de la lesión local y de la sangre de animales muertos, se observan bacilos grampositivos grandes. Puede aplicarse inmunofluorescencia a frotis secos de lesiones y esputo.

Cultivo. Las muestras (antes de la aplicación de antimicrobianos) pueden cultivarse en agar-sangre en atmósfera de CO₂ o en medios con enriquecimiento de suero y bicarbonato. La fermentación de carbohidratos carece de utilidad, aunque se realiza una serie de pruebas bioquímicas y fenotípicas para diferenciar las diversas especies. En agar semisólido *B. anthracis* se muestra inmóvil, contrariamente a otras especies como *B. subtilis* y *B. cereus*.

Se ha utilizado una clasificación simple que divide en tres grupos el género *Bacillus*, basada en el ancho de los bacilos y en el hecho de que las esporas sobrepasen o no el ancho de la pared celular. El grupo I incluye a *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. thuringiensis* y *B. megaterium*, los que de acuerdo con estudios de homología del ADN están estrechamente relacionados como cepas de una misma especie. Se dispone en la actualidad de un sistema comercial (API) para identificación de especies de *Bacillus* que ha resultado superior a la mayoría de los demás métodos. Incluye la diferenciación entre cepas virulentas o no de *B. anthracis*.

PRUEBAS SEROLÓGICAS E INMUNOSEROLÓGICAS

Se ha empleado la inmunofluorescencia para la diferenciación entre las especies *B. anthracis* y *B. cereus*. En muestras de suero de enfermos y convalecientes se ha aplicado la hemaglutinación indirecta en gel y la fijación del complemento.

TRATAMIENTO

El tratamiento debe iniciarse lo antes posible. La penicilina es eficaz en el ántrax, excepto en su forma pulmonar. Algunos bacilos grampositivos pueden ser resistentes a la penicilina debido a la producción de β-lactamasa. Las tetraciclinas, eritromicina o clindamicina pueden ser útiles.

PREVENCIÓN

El ántrax en animales puede ser prevenido con vacunas vivas atenuadas, al igual que algunos trabajadores expuestos a riesgo y laboratoristas.

OTROS BACILOS AEROBIOS ESPORULADOS DE INTERÉS MÉDICO

Algunas otras especies de bacilos aerobios esporulados son ocasionalmente responsables de enfermedad en sujetos inmunocomprometidos. *B. cereus* está involucrado como un

invasor oportunista con más frecuencia que las demás especies. Puede ser causa de brotes de intoxicación alimentaria como resultado de la germinación de las esporas en alimentos como cereales o granos insuficientemente cocinados o recalentados luego de una insuficiente refrigeración (forma emética), o carnes con salsas o jaleas (forma diarreaica).

Numerosos productos de uso médico, en investigación o en la agricultura son elaborados por especies de *Bacillus*. Por ejemplo, la bacitracina (antibiótico), la penicilinas (del *B. cereus*), endonucleasas de restricción para clonaje de ADN, insecticidas potentes (*B. thuringiensis*) y esporas termorresistentes para control de esterilización (*B. stearothermophilus*).

RESUMEN

El género *Bacillus* está compuesto por más de 40 especies de bacilos grampositivos, esporulados, grandes, que crecen mejor en condiciones aeróbicas. La mayoría de las especies son saprófitas y se encuentran en el suelo, agua, vegetales y aire. La especie de mayor importancia patogénica es *B. anthracis*, agente etiológico del ántrax o carbunco. La especie que se aísla con mayor frecuencia es *B. cereus*, el cual puede estar asociado a brotes de intoxicación alimentaria por la producción de una enterotoxina. Las células típicas miden $1 \times 3-4 \mu\text{m}$, tienen terminaciones cuadradas y se disponen en largas cadenas. Poseen esporas centrales. El bacilo del ántrax se cultiva en medios nutritivos habituales y aunque es capaz de crecer en condiciones de anaerobiosis, crece mejor y produce esporas en presencia de oxígeno. Las esporas del ántrax son relativamente resistentes al calor y a los desinfectantes químicos. Permanecen viables durante meses en la piel de animales y durante años en tierra seca. Sólo las cepas que producen tanto cápsula como toxina son altamente patogénicas. El hombre se infecta accidentalmente mediante la penetración de esporas a través de la piel o mucosas lesionadas y rara vez por aspiración. Las muestras consisten en líquidos de la lesión local (pápulas y vesículas), pus, sangre y esputo, y pueden cultivarse en agar-sangre en atmósfera de CO_2 o en medios con enriquecimiento de suero y bicarbonato. La penicilina es eficaz en el ántrax, excepto en su forma pulmonar.

BIBLIOGRAFÍA

- Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM (eds.). Nelson Tratado de Pediatría. 15ta. ed. Vol. II. Mc. Graw-Hill. Interamericana, 1997.
- Clarridge JE. Gram-Positive Bacilli: *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Listeria*, and *Erysipelothrix*. In: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF et al. (eds.). Clinical and Pathogenic Microbiology. 2nd ed. Mosby-Year Book, Inc, 1994.
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg A (eds.). Manual de Microbiología Médica. 15ta. edición en español. México DF: Ed. El Manual Moderno SA, 1996.
- Romero Cabello R. Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. 2da ed. México: Ed. Médica Panamericana, 1999.
- Swartz MN. Aerobic Spore-Forming Bacilli. In: Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS (eds.). Microbiology 4th ed. J B Lippincott Company, 1990.



Capítulo

23

Clostridios

Teresita A. Leiva Sánchez

INTRODUCCIÓN

Los bacilos anaerobios esporulados pertenecen al género *Clostridium* (del griego: *kloster*, astilla, esquirla). Su hábitat natural es el suelo y el tracto gastrointestinal de animales herbívoros y el hombre. En circunstancias apropiadas, algunos de estos organismos actúan como patógenos humanos, produciendo enfermedades diferentes: botulismo, tétanos, celulitis anaerobia, gangrena gaseosa, bacteriemia, colitis pseudomembranosa y gastroenteritis.

La patogenicidad de estos organismos depende de la producción de potentes exotoxinas o de enzimas altamente destructivas y se han agrupado de la siguiente forma:

1. Los que producen una gran infección y una gran intoxicación (especies histotóxicas), que ocasionan la gangrena gaseosa.
2. Los que producen una mínima infección y una gran intoxicación (agente etiológico del tétanos).
3. Los que producen una gran intoxicación sin provocar infección (agente etiológico del botulismo).

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Los clostridios son bacilos grampositivos, largos y pleomórficos. En cultivos de 48 horas muchos de ellos se observan gramnegativos. Todas las especies forman esporas, aunque con variaciones en las condiciones requeridas. Las esporas tienen forma oval o esférica; son, a menudo, más anchas que la célula original, situadas ecuatorial, terminal o subterminalmente. La mayoría de las especies poseen flagelos peritricos y son móviles. Algunos, como *C. perfringens*, son encapsulados.

Cultivo. La mayoría crecen sólo en condiciones de anaerobiosis. El uso de medios enriquecidos proporciona condiciones óptimas para el crecimiento. Entre los suplementos más comúnmente empleados están: el extracto de levadura, sangre, hemina, vitamina K y algunos aminoácidos.

Los mejores medios para la recuperación de microorganismos anaerobios son aquellos que nunca han sido expuestos al oxígeno, es decir, medios recién preparados (frescos) o

prerreducidos, esterilizados anaeróbicamente, eliminando el oxígeno y reduciendo de modo parcial los ingredientes mediante ebullición o añadiendo agentes reductores. La preparación de medios anaerobios es impracticable por la mayoría de los laboratorios, sin embargo, existen sistemas anaeróbicos comercialmente disponibles.

Las muestras recomendadas para cultivo anaerobio deben ser inoculadas en placas con medio agar-sangre no selectivo (Columbia, Brucella, BHI, TSB), medio anaerobio selectivo (agar-sangre-feniletíl-alcohol, agar-sangre-vancomicina-kanamicina) y medio líquido de enriquecimiento (tioglicolato y glucosa-carne molida). Los medios líquidos deben ser calentados durante 10 minutos antes de ser inoculados.

Tanto el medio selectivo como el no selectivo deben ser empleados en el aislamiento primario. El medio de enriquecimiento servirá para el control del cultivo primario en placas, para recuperar microorganismos que hayan crecido en bajo número y para el aislamiento de organismos de crecimiento lento. La selección de los diversos medios varía con la procedencia y la naturaleza de la muestra.

Procedimientos de inoculación

Muestras líquidas: deberá emplearse una pipeta capilar (o directamente de la jeringuilla donde se colectó la muestra) para inocular el medio líquido o semisólido. Se evitará la agitación, ya que puede airearse de nuevo el medio. Se colocarán una o dos gotas del inóculo en cada medio en placa, estriándolo con un asa bacteriológica que no sea de níquel y cromo (nicrom), ya que este oxida el inóculo. Deberá realizarse, además, un frotis para coloración de Gram antes de descartar la pipeta o la jeringuilla.

Tejido y otros especímenes: la muestra se homogeneizará en 1 mL de caldo tioglicolato u otro medio apropiado utilizando un mortero. Este procedimiento debe realizarse en una cámara de anaerobiosis para minimizar la exposición al oxígeno, de lo contrario, se procederá lo más rápidamente posible. Una vez obtenida la homogeneización, se procederá de igual forma que con muestras líquidas.

Hisopados: si se reciben dos hisopos, uno deberá emplearse para inocular el medio líquido, rotándolo suavemente para evitar agitación y el otro se utilizará en un frotis para coloración de Gram. Si se dispone sólo de un hisopo, se preparará una suspensión en 0,5 o 1,0 mL de tioglicolato u otro medio adecuado, para luego proceder de igual forma que con las muestras líquidas.

Forma de las colonias. Algunos microorganismos producen colonias grandes, elevadas, con bordes enteros en medios sólidos (*C. perfringens*); otros producen colonias más pequeñas, cuyos bordes se extienden en forma de red de finos filamentos (*C. tetani*). Muchos clostridios producen una zona de hemólisis en agar-sangre y de manera típica, *C. perfringens* crea una doble β -hemólisis alrededor de sus colonias.

Se recomienda, generalmente, que los cultivos en condiciones anaeróbicas deben incubarse durante 48 horas, para evitar las exposiciones bactericidas al oxígeno durante las observaciones a las 24 horas. Es asimismo recomendable hacer coloración de Gram a cada tipo de colonia aislada, para observar la presencia de esporas.

Características del crecimiento. Teniendo en cuenta que los clostridios tienen características culturales similares, a la vez que pueden confundirse con especies facultativas del género *Bacillus* spp., debe realizarse el test de aerotolerancia (relación con el oxígeno), que consiste en subcultivar cada colonia en medio agar-sangre (incubado anaeróbicamente), en medio agar-chocolate (incubado en 5 % de CO₂) y del mismo hisopo, depositar una porción del material en una lámina portaobjeto para coloración de Gram. La prueba de catalasa puede servir para la diferenciación con los miembros facultativos del género *Bacillus* spp. La placa de agar-sangre para anaerobiosis puede ser estriada para colocarle discos de kanamicina, colistina y vancomicina como parte de la identificación presuntiva de especies de clostridios.

Clostridium tertium y *C. histolyticum* son aerotolerantes y forman colonias en medio fresco de agar-sangre incubado aeróbicamente. *C. novyi* y *C. haemolyticum* son anaerobios estrictos y requieren técnicas de exclusión estricta de oxígeno para su aislamiento.

Clostridium perfringens es la más frecuentemente aislada de las especies de clostridios. En agar-sangre produce una doble hemólisis (interna: hemólisis completa debida a la toxina

theta [θ]; y externa: hemólisis incompleta debida a la toxina alfa [α]). Esta última actúa, a su vez, como una lecitinasa (enzima que descompone la lecitina, constituyente importante de las membranas celulares, produciendo necrosis), mientras la primera tiene esos mismos efectos hemolíticos y necrosantes, pero no es una lecitinasa. Ambas características, unidas al test de CAMP invertido, que se basa en el sinergismo hemolítico entre el *Streptococcus agalactiae* (grupo B) y el *C. perfringens*, sirven como pruebas presuntivas de esta especie. Otras especies productoras de lecitinasa, además de *C. perfringens*, son: *C. baratii*, *C. bifermentans* y *C. sordelli*.

La segunda especie de clostridio aislada con más frecuencia es *C. ramosum*, el cual, morfológicamente, se observa como bacilos gramnegativos largos, finos y a veces curvos. Se encuentra en la flora normal del intestino y se asocia con infecciones que involucran contaminación fecal, tales como infecciones intraabdominales. Igualmente importante en los laboratorios es la identificación de *C. septicum*, relacionado con la enterocolitis necrosante en pacientes neutropénicos.

La identificación de *C. tetani* y *C. botulinum* no se lleva a cabo en laboratorios de diagnóstico. El diagnóstico habitual del tétanos es clínico, mientras que el botulismo se diagnostica en laboratorios de referencia. Por otra parte, la identificación de *C. difficile* reviste importancia en el estudio de los patógenos nosocomiales, ya que se ha relacionado al 90 y 100 % de casos de colitis pseudomembranosa asociada a antibióticos.

Los clostridios carecen de citocromos, requeridos para el transporte de electrones en la cadena respiratoria. Contienen enzimas tipo flavoproteínas que reducen el O_2 a H_2O_2 y a superóxido (O_2^-). Carecen también de catalasa, peroxidasas y superóxido dismutasa, que deberían destruir estos productos tóxicos: de ahí su anaerobiosis obligada. No todos los clostridios son igualmente oxígeno-sensibles; *C. tetani* requiere anaerobiosis estricta, *C. perfringens* es mucho menos exigente, mientras que *C. histolyticum* y *C. tertium* pueden crecer en placas de agar-sangre aeróbicas. Las esporas de los clostridios no sólo resisten el calor y los desinfectantes, sino que sobreviven largos períodos expuestas al aire y sólo germinan bajo fuertes condiciones reductoras. Las muestras deben colectarse y transportarse en recipientes o tubos libres de aire e inocularse rápidamente en medios prerreducidos antes de incubarlos en condiciones de anaerobiosis.

La mayoría de los clostridios producen grandes cantidades de gas (CO_2 y H_2). La fermentación de diferentes azúcares es de utilidad en la diferenciación de las especies. Otros tests bioquímicos incluyen reacciones en leche, liquefacción de gelatina y producción de indol a partir del triptófano.

Algunos clostridios son predominantemente proteolíticos, mientras otros son sacarolíticos. Se ha identificado una gran variedad de enzimas en los filtrados de cultivos de clostridios, incluyendo colagenasa y otras proteinasas, hialuronidasas, desoxirribonucleasa, lecitinasa y neuraminidasa. Otras potentes exotoxinas son las toxinas botulínicas, la toxina tetánica y las enterotoxinas del *C. perfringens* y el *C. difficile*. Los anticuerpos contra estos productos se emplean para la identificación de las distintas especies, pero los antígenos somáticos y flagelares no han resultado útiles en esta clasificación.

CARACTERÍSTICAS ANTIGÉNICAS

Los clostridios comparten antígenos, pero también parecen poseer antígenos específicos solubles que permiten agruparlos por medio de pruebas de precipitación.

La identificación presuntiva de las especies de clostridios, al igual que de otros anaerobios, está recopilada en diferentes manuales (*CDC Laboratory Manual*, *Virginia Polytechnic Institute Anaerobe Manual* y *Wadsworth Anaerobic Bacteriology Manual*).

En el cuadro 23.1 se muestran algunas características útiles para la identificación de especies de *Clostridium* spp. comúnmente aisladas:

Cuadro 23.1 Características útiles para la identificación de especies comunes de *Clostridium* spp *

Característica	Especie
Aerotolerante	<i>C. histolyticum</i> , <i>C. tertium</i>
Inmóvil	<i>C. innocuum</i> , <i>C. perfringens</i> , <i>C. ramosum</i>
Esporas terminales	<i>C. cadaveris</i> , <i>C. innocuum</i> , <i>C. tertium</i> , <i>C. tetani</i>
Lecitinasa positiva (agar yema de huevo)	<i>C. bifementans</i> , <i>C. limosum</i> , <i>C. novyi</i> , <i>C. perfringens</i> , <i>C. sordelli</i> , <i>C. subterminale</i>
Lipasa positiva (en agar yema de huevo)	<i>C. botulinum</i> , <i>C. novyi</i> tipo A, <i>C. sporogenes</i>
No sacarolítico	<i>C. histolyticum</i> , <i>C. limosum</i> , <i>C. subterminale</i> , <i>C. tetani</i>
Ureasa positiva	<i>C. sordelli</i>
Gelatina negativa	<i>C. butyricum</i> , <i>C. innocuum</i> , <i>C. ramosum</i> , <i>C. tertium</i>

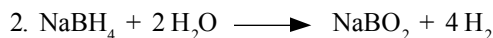
* Modificado de Dowell VR, Hawkins TM. *Laboratory methods in anaerobic bacteriology*. CDC Laboratory Manual. Atlanta, 1981. Publication No. (CDC) 81-8272.

PROCEDIMIENTOS ESPECIALES PARA AISLAMIENTO DE CLOSTRIDIOS

Sistemas anaeróbicos

Dado que la incubación de los anaerobios debe llevarse a cabo en ausencia de aire, se han diseñado diversos métodos para lograrlo. Se dispone en la actualidad de jarras, cámaras y bolsas anaeróbicas, así como del método del tubo revestido con medio sólido prerreducido (*roll tube method*).

Las primeras jarras anaeróbicas lograban estas condiciones gracias al empleo de catalizadores (para acelerar la unión del H₂ con el O₂ con producción de agua) activados mediante corriente eléctrica. Las jarras anaeróbicas producidas hoy, como el sistema GasPack Jar (Becton Dickinson) o el Oxoid Jar (Oxoid), son mucho más prácticas, pues utilizan sistemas de catalizadores "fríos" que no requieren calor ni corriente eléctrica, tales como los *pellets* de aluminio recubiertos con paladio (que deben ser reactivados a 160 °C durante 2 horas después de cada uso, para evitar la humedad y la acumulación de H₂S). Las condiciones de anaerobiosis pueden lograrse con generadores desechables de hidrógeno-dióxido de carbono, consistentes en tabletas de ácido cítrico-bicarbonato de sodio y de borohidruro de sodio-cloruro de cobalto. El sistema se activa añadiendo 10 mL de agua con una pipeta a la bolsa que contiene las tabletas. Se colocan toallas de papel para evitar el exceso de humedad dentro de la jarra. La reacción responsable de crear las condiciones de anaerobiosis es la siguiente:



Otro método para lograr anaerobiosis consiste en la evacuación del aire contenido en la jarra mediante un tubo conectado a una bomba de vacío. Se repite tres veces la maniobra de vacío y remplazo por nitrógeno comercial, hasta que al final se añade una mezcla de gases (H₂, CO₂ y N₂), se cierra el tubo y se desconecta de la bomba antes de la incubación. Existen en la actualidad sistemas comerciales en que la evacuación/remplazo se hace automáticamente.

Las cámaras anaeróbicas son equipos que permiten la manipulación de muestras para cultivo en su interior, ya que proporcionan un ambiente anaeróbico permanente, mediante activación semanal de su catalizador. Todo el sistema está atemperado adecuadamente para permitir la incubación de los cultivos. Una gran ventaja es que posibilitan el examen de los cultivos sin exposición al oxígeno, pues son fabricadas de material transparente. Sus des-

ventajas son el espacio requerido, la dificultad de la manipulación a través de guantes de goma y la posibilidad de roturas o filtraciones.

Se dispone también de bolsas plásticas transparentes para placas individuales, las cuales contienen pequeños *sachets* con polvo de hierro, que reduce el oxígeno molecular a óxido de hierro luego de la adición de agua. No contienen catalizador.

El método del tubo revestido con medio prerreducido (*roll tube method*) permite su inoculación total empleando un aditamento especial para estriar en rotación. La insuflación de CO₂ libre de oxígeno mediante una cánula y la rápida inoculación de toda la superficie del medio a través de un dispositivo operado por pedal, admiten mantener un ambiente anaeróbico individual en cada tubo.

Como indicadores del potencial de anaerobiosis de un sistema dado se emplean los colorantes redox. Estos actúan como aceptores o donadores de electrones y se colorean, por lo general, en su forma oxidada, y pierden su color cuando hay cambios en los potenciales de óxido-reducción. La resazurina y el azul de metileno son los colorantes más utilizados con estos propósitos.

Sistemas comerciales de identificación bioquímica

Se han introducido varios sistemas comerciales para la identificación de anaerobios de importancia clínica. Por ejemplo, el sistema Minitek (Becton Dickinson) emplea discos de papel impregnados en varios sustratos bioquímicos. Las reacciones se leen después de 48 horas de incubación en anaerobiosis; el sistema API 20-A (BioMérieux) y otros de principios similares utilizan tiras de microcúpulas que contienen sustratos liofilizados los cuales se rehidratan con un inóculo concentrado, equivalente al No. 3 de la escala de Mc Farland y se incuban en anaerobiosis. Las reacciones se leen tras añadir púrpura de bromocresol como indicador. Recientemente se han introducido sistemas basados en la detección de enzimas preformadas (glucosidasas, aminopeptidasas) utilizando sustratos cromogénicos. Estos sistemas tienen la ventaja de una mayor rapidez y la no necesidad de incubación en anaerobiosis. Tras la lectura de las diferentes reacciones, se van combinando perfiles numéricos, los cuales aparecen en una tabla o listado de códigos que corresponden con los géneros y especies de las cepas en estudio.

Estos y muchos otros sistemas de identificación útiles están siendo producidos comercialmente y evaluados en la práctica.

La cromatografía gas-líquido también se puede emplear para la identificación tanto presuntiva como definitiva de los microorganismos anaerobios. Durante el metabolismo celular de estos organismos se producen alcoholes, ácidos grasos y ácidos orgánicos no volátiles. La determinación de estos productos mediante la cromatografía gas-líquido consiste en fraccionar la muestra en sus componentes, basándose en la diferente solubilidad y rango de difusión. La muestra se calienta hasta volatilizar sus componentes, los que son transportados a través de una columna (soporte sólido cubierto por una fase líquida estacionaria) por un flujo constante de gas (helio o nitrógeno). Esto permite la separación de la muestra en sus componentes, generando señales eléctricas proporcionales a su concentración, que son detectadas por los sensores de conductividad térmica y de ionización. Un grabador recoge esas señales y las convierte en gráficos que se imprimen en papel.

CLOSTRIDIUM BOTULINUM

El botulismo habitualmente no se considera una enfermedad infecciosa, sino una intoxicación: es el resultado de la ingestión de alimentos contaminados con toxina botulínica preformada en lugar de la multiplicación del *C. botulinum* en el tracto gastrointestinal. Es una enfermedad aguda acompañada de parálisis flácida, causada por la neurotoxina sintetizada por *C. botulinum* o más rara vez por una neurotoxina equivalente sintetizada por cepas únicas de *C. butyricum* (neurotoxina tipo E) y *C. baratti* (neurotoxina tipo F). Es una proteína que consta de una cadena pesada de 100 kDa, que contiene un sitio de unión a las neuronas y una cadena ligera de 50 kDa que se introduce dentro de la célula después de la unión. Su potencia excepcional se explica porque sus cadenas ligeras son endopeptidasas de Zn²⁺,

cuyo sustrato es uno de los tres componentes proteicos del complejo de unión, mediante el cual las vesículas sinápticas se unen a la membrana de la célula terminal y liberan acetilcolina en el espacio sináptico. Las carnes y salchichas mal cocinadas o ahumadas y las frutas y conservas, sobre todo caseras, mal procesadas, son el principal vehículo del botulismo. En raras ocasiones se observa infección de heridas por este organismo (botulismo de heridas), y son igualmente raros los casos de colonización del tracto gastrointestinal de niños pequeños entre 2 y 36 meses (botulismo infantil). La toxina botulínica actúa sobre el sistema nervioso, por lo cual produce enfermedad grave con daño de los nervios craneales y debilidad o parálisis.

Se han identificado ocho tipos inmunológicamente distintos de toxina (A, B, C₁, C₂, D, E, F, G). Todas, excepto la C₂, son neurotoxinas. Estas son las más potentes toxinas biológicas conocidas. Su producción por algunas cepas depende de la presencia de profagos específicos. Los tipos A, B y E son los más frecuentemente relacionados con enfermedad humana. Aunque se desconoce la dosis mortal para el hombre, se estima que es inferior que 1 a 2 µg. Son destruidas por calentamiento a 100 ° C durante 20 minutos.

PATOGENIA

La toxina ingerida no es inactivada por la acidez o las enzimas proteolíticas del estómago y la porción superior del intestino. Después de su absorción, la toxina alcanza las uniones neuromusculares y las sinapsis periféricas del sistema autónomo por vía linfática o sanguínea, bloqueando la producción o la liberación de acetilcolina con la consecuente parálisis flácida. Se conoce que interactúa con algunos gangliósidos del tejido nervioso, donde finalmente se inactiva. La mayor parte de los brotes se deben a cepas proteolíticas del tipo A o B. La presencia de cepas no proteolíticas (E y F) es más difícil de detectar, dado que no producen olor a materia putrefacta y son capaces de crecer a la temperatura de los refrigeradores domésticos.

DATOS CLÍNICOS

Los síntomas comienzan a las 18 a 24 horas de haber ingerido el alimento contaminado, con náuseas, vómitos, parálisis de los músculos oculares, de la faringe (disfagia, disfonía), del cuello, tronco y miembros. La muerte sobreviene generalmente por parálisis de los músculos respiratorios.

El botulismo de heridas ocurre como complicación de una herida contaminada con esporas, por presencia de tierra o por abuso de drogas. Los síntomas son similares al botulismo de origen alimentario, con la diferencia de que los síntomas neurológicos se desarrollan sin antecedentes alimentarios.

El botulismo infantil aparece como consecuencia de la ingestión de alimentos contaminados con esporas, que germinan y producen toxinas a nivel del intestino. Hay antecedentes de ingestión de algunos alimentos sólidos, miel o un tránsito intestinal enlentecido. La severidad del cuadro varía de una infección inaparente a la muerte.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

En caso de sospecha de botulismo, se emplea la inoculación del suero del paciente, el alimento o extractos de las heces fecales en ratones. Aparece parálisis en 1 a 5 días. La neutralización de la toxina con antisueros específicos tiene efecto protector y sirve como identificación del tipo antigénico. También se emplean la hemaglutinación pasiva y el radioinmunoensayo.

TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

Existen potentes antitoxinas específicas contra los tres tipos de toxina botulínica, pero ya que la causa suele desconocerse, se emplea la antitoxina trivalente (A, B, E) disponible en

CDC, Atlanta, Georgia. El uso de un toxoide pentavalente sólo se justifica en trabajadores de laboratorio y en ganado vacuno en áreas endémicas.

CLOSTRIDIUM TETANI

El tétanos es una enfermedad aguda, a menudo fatal, en la cual las manifestaciones clínicas son el resultado no de una infección invasiva, sino de la acción de una potente neurotoxina (tetanospasmina), elaborada cuando las esporas del *Clostridium tetani* germinan después de ganar acceso a una herida. La enfermedad se desarrolla en el sitio de un trauma penetrante, úlceras crónicas de la piel, infecciones del muñón del cordón umbilical (tétanos neonatal), procedimientos obstétricos (tétanos posaborto) e inyecciones infectadas en drogadictos. La enfermedad es, particularmente, importante en medicina militar. Debido a que sólo hay un tipo antigénico de toxina involucrado, ha sido posible la elaboración de un toxoide monotípico efectivo.

Clostridium tetani es un anaerobio estricto, sin cápsula, con esporas esféricas terminales, con apariencia de palillo de tambor o de raqueta de tenis. Se encuentra en el suelo y las heces fecales de animales de granja y domésticos. En humanos, el microorganismo es habitante transitorio del intestino, en dependencia de su ingestión. Se han distinguido varios tipos de *C. tetani* por sus antígenos flagelares específicos, pero comparten un antígeno somático O común.

Todos producen el mismo tipo antigénico de neurotoxina. La toxina tetánica es ligeramente menos potente que la toxina botulínica tipo A; sólo 1 ng/kg de peso inyectado a animales de laboratorio produce parálisis espástica. El gen estructural para su producción se encuentra en un plásmido de 75 kDa. Cada molécula de toxina, como la botulínica, consiste en una cadena H y una L, unidas por un puente disulfuro, las cuales, por separado, no resultan tóxicas. La digestión con papaína la divide en dos fragmentos que conservan los puentes disulfuro, de modo que mantienen su inmunogenicidad pero son atóxicos. Los mamíferos parecen ser los animales más sensibles a la acción de la toxina tetánica. Las aves son casi resistentes. Además de la tetanospasmina (toxina neurotrópica), *C. tetani* produce una hemolisina, semejante a la estreptolisina O (tetanolisina), cuyo papel neurotóxico se discute.

Los anticuerpos protectores son las antitoxinas, ya que los dirigidos contra antígenos somáticos no tienen efecto protector.

PATOGENIA

Clostridium tetani es un germen oportunista no invasivo, que suele penetrar en tejidos lesionados o desvitalizados en forma de esporas. En ocasiones, las esporas introducidas por heridas previas pueden sobrevivir durante meses o incluso años y convertirse en formas vegetativas por traumatismos mínimos o alteraciones en las condiciones locales. Por ello, en el 10 al 20 % de los casos de tétanos no existe un antecedente reciente de lesión o evidencia de una herida infectada. La infección permanece localizada en la puerta de entrada, usualmente con una respuesta inflamatoria mínima. La presencia de otros microorganismos y de cuerpos extraños induce una inflamación más marcada y un potencial de óxido-reducción más bajo, por lo que favorece el crecimiento de *C. tetani*. En el 5 al 10 % de los casos, la lesión inicial es tan trivial que no es tomada en cuenta por el paciente. El acceso de esporas a las heridas abiertas y limpias no resulta necesariamente en enfermedad. La toxina, aparentemente, puede viajar a través de dos rutas hasta el Sistema Nervioso Central: por vía sanguínea o linfática (humoral) o a través de los espacios hísticos de los nervios periféricos (neural).

La toxina tetánica causa disfunción muscular por bloqueo de un neurotransmisor que impide la liberación de los mediadores inhibitorios glicina y ácido γ -aminobutírico, los cuales impiden la contracción de determinado músculo cuando el que tiene acción opuesta está contraído. Ejerce su acción, sobre todo, en la médula espinal al alterar el control normal del arco reflejo. La toxina tetánica, al igual que la botulínica, se une a un receptor a nivel de la membrana de las células nerviosas (ácido siálico contenido en los gangliósidos del tejido nervioso), al menos una porción de ella debe pasar al interior de la célula para que cause su efecto sobre el músculo.

El período de incubación varía de 1 a 54 días (generalmente de 6 a 15 días). Los signos y síntomas tempranos incluyen tensión o calambre, temblor en los músculos alrededor de la lesión, hiperreflexia en la extremidad lesionada, disfagia ligera, rigidez del cuello y de las mandíbulas (trismo), e irritabilidad general.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Aunque sólo el 50 % de los individuos con tétanos tiene una lesión tan importante como para solicitar atención médica, el diagnóstico descansa en el cuadro clínico y en antecedentes de heridas. El *C. tetani* puede ser aislado en cultivo anaerobio de los tejidos de la herida contaminada y comprobado su aislamiento mediante neutralización por la antitoxina específica; sin embargo, esto no debe retrasar las medidas profilácticas ni las terapéuticas.

TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

La antitoxina tetánica, preparada en animales o en el hombre, puede neutralizar la toxina sólo antes de ser fijada en el tejido nervioso. Es preferible la antitoxina humana dada la gran cantidad de reacciones de hipersensibilidad al suero extraño, acompañada siempre de la inmunización activa con toxoide, para proporcionar tanto antitoxina disponible de inmediato como el estímulo de refuerzo para una respuesta de anticuerpos. Deberá, a su vez, hacerse la remoción quirúrgica del tejido lesionado y administrarse antimicrobianos.

CONTROL

La inmunización activa con toxoide tetánico es imperativa a nivel mundial. El curso inicial de la inmunización consiste en tres inyecciones (generalmente combinadas con toxoide diftérico y vacuna anti tos ferina) seguidas de otra dosis 1 año después. Al entrar en la escuela, todos los niños deberán recibir una dosis de refuerzo. En adelante, los refuerzos podrán recibirse cada 10 años, con el objetivo de mantener cifras séricas de 0,01 U de antitoxina/mL.

CLOSTRIDIOS QUE PRODUCEN ENFERMEDADES INVASIVAS. *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

Diferentes clostridios que producen toxinas pueden ocasionar infecciones invasivas (mionecrosis y gangrena gaseosa) si se introducen en tejido lesionado. Alrededor de 30 especies pueden originar tal efecto, aunque el más común es *C. perfringens* (90 %), que además puede ser causa común de intoxicación alimentaria. Otras especies relacionadas que pueden producir el mismo efecto son: *C. novyi*, *C. septicum*, *C. bifermentans*, *C. histolyticum* y *C. sordelli*.

Los clostridios invasores elaboran una gran cantidad de toxinas y enzimas, que dan lugar a que la infección se disemine. Muchas de ellas tienen propiedades necrosantes, hemolíticas y mortales (que con frecuencia son diferentes propiedades de una misma sustancia). La toxina α del tipo A de *C. perfringens* es una lecitinasa, cuya acción mortal es proporcional a la velocidad con que descompone la lecitina en fosforilcolina y un diglicérido. La toxina β , sólo producida por el tipo C de *C. perfringens*, causa la enteritis necrosante por un mecanismo no muy claro. La toxina theta (θ) tiene efectos hemolíticos intravasculares, y puede llegar a producir insuficiencia renal aguda. Otras toxinas menores son la Dnasa, colagenasa y hialuronidasa.

Algunas cepas de *C. perfringens* producen una enterotoxina potente cuando son ingeridas más de 10^8 células vegetativas que han proliferado en el alimento (generalmente cárnico) y esporulan en el intestino. La toxina (PM 35 000) parece ser idéntica a uno de los componentes de la envoltura de la spora.

PATOGENIA

Las esporas de estos clostridios llegan a los tejidos a través de la contaminación con tierra o heces, o procedentes de los conductos intestinales; germinan en un bajo potencial de óxido-reducción; las células vegetativas se multiplican, fermentan los carbohidratos presentes y producen gas. La distensión de los tejidos y la interferencia en la irrigación sanguínea, junto con la secreción de toxina necrosante y hialuronidasa, favorecen la diseminación de la infección, necrosis, anemia hemolítica y muerte.

Además de los clostridios toxigénicos, con frecuencia se asocian a la infección varios cocos y microorganismos gramnegativos. En ocasiones *C. perfringens* del tipo C produce una enteritis necrosante de mortalidad elevada en niños.

La acción de la enterotoxina de *C. perfringens* implica una hipersecreción notable en yeyuno e íleon, con pérdida de electrólitos por la diarrea. Aún no se ha establecido el mecanismo exacto, aunque al parecer no hay estimulación de la adenilato o guanilatociclasa.

DATOS CLÍNICOS

A partir de heridas abiertas, fracturas o útero posparto, la infección se disemina en 1 a 3 días, hasta producir crepitación en el tejido subcutáneo y en el músculo, exudación fétida, necrosis progresiva, fiebre, toxemia, shock y muerte. En ocasiones sólo se produce una celulitis o fascitis. Se pueden distinguir tres formas clínicas:

1. La infección de tejidos (los clostridios se pueden observar o cultivar e identificar, pero no hay manifestaciones de inflamación, sino sólo colonización de cepas no toxigénicas).
2. La inflamación de tejidos (hay manifestaciones de inflamación, secreción purulenta, aumento local de temperatura y enrojecimiento; no hay invasión de tejidos sanos ni signos graves de intoxicación; el pronóstico es benigno).
3. La necrosis de tejidos (forma grave del padecimiento, además de la inflamación hay invasión de los tejidos sanos, secreción serosa, sanguinolenta y fétida, toma del estado general, gran intoxicación).

En el envenenamiento alimentario por *C. perfringens*, la diarrea aparece usualmente a las 6 a 18 horas de la ingestión del alimento. No son frecuentes los vómitos ni la fiebre y el cuadro remite, de forma espontánea, en 1 o 2 días.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Las muestras para diagnóstico consisten en material de las heridas, pus y tejidos. La observación de bacilos grampositivos, grandes y esporulados mediante tinción de Gram, hace sospechar la presencia de los clostridios de la gangrena gaseosa, aunque no siempre se observan las esporas.

El material por investigar se inocula en medio con carne molida, en caldo tioglicolato y en placas de agar-sangre que se incuban en anaerobiosis. Se realizan resiembras en leche para observar la presencia de la fermentación tumultuosa o tormentosa característica del *C. perfringens*. Una vez obtenidos en cultivo puro, los microorganismos pueden identificarse por sus reacciones bioquímicas, por la presencia de hemólisis y por la forma de las colonias. La actividad lecitinasa se determina por la aparición de un precipitado blanco alrededor de las colonias en un medio con yema de huevo (reacción de Nagler). La identificación final se basa en la producción de toxina y su neutralización por la antitoxina específica (*in vivo* e *in vitro*).

TRATAMIENTO

La limpieza mediante procedimientos quirúrgicos del área afectada, así como el tratamiento con antimicrobianos, deben comenzarse simultáneamente. También se emplea oxígeno.

no hiperbárico y antitoxinas polivalentes. El tratamiento de la intoxicación alimentaria es sintomático.

PREVENCIÓN Y CONTROL

La mejor prevención es el tratamiento temprano de las lesiones y el uso de antimicrobianos. Los toxoides no se han introducido aún en la práctica.

CLOSTRIDIOS Y ENFERMEDAD DIARREICA. *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*

La diarrea es uno de los efectos adversos colaterales de la terapia antimicrobiana. La severidad de los cambios patológicos en la mucosa del colon varía desde diarrea sin colitis y colitis asociada a antibióticos hasta colitis pseudomembranosa severa (CPS) asociada a antibióticos. Esta última se caracteriza por la presencia de placas elevadas, adherentes, blanco-amarillentas o verde-amarillentas en la mucosa del colon, de hasta 10 o 20 mm de diámetro. Estas placas a menudo se unen para formar una pseudomembrana compuesta por mucina, fibrina, células epiteliales y células inflamatorias. Con frecuencia aparecen complicaciones como deshidratación, desbalance electrolítico, perforaciones, etc. En niños pequeños el curso puede ser particularmente agresivo, por lo que el diagnóstico precoz es importante.

Clostridium difficile se asocia con el 90 al 100 % de los casos de CPS, con el 50 al 75 % de las colitis asociadas a antibióticos y con el 15 al 25 % de las diarreas asociadas a antibióticos. Los agentes antimicrobianos más frecuentemente relacionados son ampicilina, clindamicina y las cefalosporinas. Algunos autores señalan que hay ciertos componentes críticos en la enfermedad entérica inducida por este microorganismo. El primero consiste en la alteración de la flora intestinal que provoca el uso de estos antimicrobianos, el segundo es que debe existir una fuente de *C. difficile*, lo mismo a partir de la flora endógena que de una fuente exógena. El tercer componente crítico es que el agente debe ser potencialmente capaz de producir toxina.

Con independencia de las fuentes mencionadas, el microorganismo ha sido aislado a partir del ambiente hospitalario, en pisos, inodoros, cuñas e instrumental contaminado. El 10 al 20 % de los pacientes hospitalizados albergan el microorganismo en el intestino, sirviendo de reservorio importante, y alrededor del 50 % de los niños pequeños pueden estar colonizados con cepas toxigénicas aunque no desarrollen enfermedad. Las manos del personal hospitalario son un vehículo importante para su transmisión. El control del uso de antimicrobianos, el empleo de guantes, la desinfección ambiental y otras medidas preventivas, han reducido la incidencia de la infección. Se considera que *C. difficile* es un ejemplo perfecto de infección del tracto gastrointestinal, caracterizada por proliferación intraluminal, producción de toxina y daño significativo de la mucosa sin invasión.

Se han asociado dos toxinas, la A y la B, con la patogenicidad de este organismo; los genes tox no los portan fagos o plásmidos, se desconoce la regulación genética de su producción. No todas las cepas toxigénicas son por igual patogénicas. La toxina A causa daño extensivo, responsable aparentemente de la pérdida de líquidos. La toxina B es una citotoxina en extremo potente, que parece actuar sobre el sistema de microfilamentos de las células. Es la responsable del efecto citopático observado en los cultivos de tejidos. Los genes que codifican la producción de ambas toxinas han sido clonados y se encuentran estrechamente ligados entre sí en el cromosoma bacteriano, lo que explica su coproducción en las cepas toxigénicas.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Actualmente se dispone de cinco técnicas de laboratorio diferentes, aunque ninguna por sí sola brinda un diagnóstico definitivo: ensayo de citotoxicidad en cultivo de tejidos, cultivo bacteriológico, aglutinación en látex, ensayo inmunoenzimático (ELISA) y ensayo en cadena de polimerasa (PCR).

Se han utilizado varios medios selectivos para aislamiento, incluyendo el agar- yema de huevo-cicloserina-cefoxitina-fructosa (CCFA), el cicloserina-manitol-agar-sangre (CMBA) y otros. El cultivo es una técnica muy sensible pero no una herramienta útil para diagnóstico, ya que puede ser positivo en el 2 al 3 % de los adultos sanos. La aglutinación en látex no detecta toxinas A o B, sino la enzima glutamato-deshidrogenasa, de modo que reacciona con cepas toxigénicas y no toxigénicas de *C. difficile*, y con otras especies de clostridios y de *Peptostreptococcus* spp. En la actualidad se están evaluando otros sistemas basados en la aglutinación en látex. Los sistemas de ELISA detectan toxinas A y B, pero no son tan sensibles como los tests de citotoxinas en cultivo de tejidos. Los procedimientos basados en PCR han mostrado resultados más rápidos y confiables, mediante la amplificación de una secuencia específica de ARN ribosomal o de genes de toxinas. Este procedimiento se aplica en laboratorios de referencia. Se han propuesto esquemas de diagnóstico que incluyen parámetros tanto clínicos como de laboratorio.

RESUMEN

Los bacilos anaeróbicos esporulados pertenecientes al género *Clostridium*, en circunstancias apropiadas actúan como patógenos humanos, produciendo enfermedades diferentes: botulismo, tétanos, celulitis anaerobia, gangrena gaseosa, bacteriemia, colitis pseudomembranosa y gastroenteritis.

La mayoría crecen solamente en condiciones de anaerobiosis. Se han introducido varios sistemas comerciales para la identificación de anaerobios de importancia clínica. La selección de los diversos medios varía con la procedencia y la naturaleza de la muestra. Todos tienen características culturales similares. *C. perfringens* es la más frecuentemente aislada de las especies de clostridios. La identificación de *C. tetani* y *C. botulinum* no se lleva a cabo habitualmente en laboratorios de diagnóstico. Se ha identificado una gran variedad de enzimas en los filtrados de cultivos de clostridios, incluyendo colagenasa, otras proteinasas, hialuronidasas, desoxirribonucleasa, lecitinasa y neuraminidasa. Otras potentes exotoxinas son las toxinas botulínicas, la toxina tetánica y las enterotoxinas del *C. perfringens* y el *C. difficile*. La toxina botulínica actúa sobre el sistema nervioso, y produce enfermedad grave con daño de los nervios craneales y debilidad o parálisis. La toxina tetánica es ligeramente menos potente que la toxina botulínica tipo A; al igual que esta, se une a un receptor a nivel de la membrana de las células nerviosas. Diferentes clostridios que producen toxinas pueden ocasionar infecciones invasivas si se introducen en tejido lesionado. Alrededor de 30 especies pueden originar tal efecto, aunque el más común es *C. perfringens* (90 %), que además puede ser causa común de intoxicación alimentaria. Otras especies relacionadas que pueden producir el mismo efecto son: *C. novyi*, *C. septicum*, *C. bifermentans*, *C. histolyticum* y *C. sordelli*.

Algunas cepas de *C. perfringens* producen una enterotoxina potente. En ocasiones *C. perfringens* del tipo C provoca una enteritis necrosante de mortalidad elevada en niños. *C. difficile* se asocia con el 90 al 100 % de los casos de colitis pseudomembranosa, con el 50 al 75 % de las colitis asociadas a antibióticos y con el 15 al 25 % de las diarreas asociadas a antibióticos.

BIBLIOGRAFÍA

- Allen SD, Baron EJ. Clostridium. In: Ballows A, Hausler WJ, Herrman KL, et al. (eds.). Manual of Clinical Microbiology. 15th ed. Washington: American Society for Microbiology, 1991.
- Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM (eds.). Nelson. Tratado de Pediatría. 15ta. ed. Vol II. Mc. Graw-Hill. Interamericana, 1997.
- Cardoso D et al. Tecnología de obtención de Vacuna Antitetánica Purificada: dos puntos de vista. VacciMonitor, 1998;7(7):2-9.
- González P et al. Determinación de la adsorción de los toxoides diftérico y tetánico en las vacunas antidiftérica-tetánica y antidiftérica-tetánica-pertussis. VacciMonitor 1999;8(3):2-6.
- Howard BJ, Keiser JF. Anaerobic Bacteria. In: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF, et al. (eds.). Clinical and Pathogenic Microbiology. 2nd ed. St Louis Mosby-Year Book, Inc, 1994.
- Romero CR. Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. 2da ed. México: Ed. Médica Panamericana, 1999.
- Swartz MN. Anaerobic Spore-Forming Bacilli: the Clostridia. In: Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS (eds.). Microbiology. 4th ed. J B Lippincott Company, 1990.

A graphic element consisting of a light-colored oval with a subtle gradient, containing the word 'Capítulo' in a purple serif font above the number '24' in a larger, bold purple serif font. A thin horizontal line extends to the right from the top of the oval.

Capítulo 24

Neisserias y Moraxella catarrhalis

Isabel Martínez Motas

INTRODUCCIÓN

La familia *Neisseriaceae* está compuesta por cocos o cocobacilos gramnegativos aerobios con tendencia a agruparse en parejas. Esta familia comprende los géneros *Neisseria*, *Acinetobacter*, *Kingella* y *Moraxella*. El desarrollo de los estudios genéticos conducen a cambios en la taxonomía de esta familia, encontrándose dentro de estos, la inclusión de *Moraxella catarrhalis* (antes *Neisseria catarrhalis*) en el género *Moraxella*. Las especies de neisserias y *Moraxella catarrhalis* son semejantes respecto a su morfología, actividad metabólica limitada y hábitat acostumbrado, pero difieren en su potencial patógeno y en sus características genéticas.

Estos microorganismos son cocos gramnegativos que pueden ser refractarios a la decoloración, se agrupan en pares (diplococos) con los lados adyacentes planos y en las preparaciones microscópicas presentan la apariencia de riñón o grano de café. Dentro del género *Neisseria*, *Neisseria meningitidis* (meningococo) provoca meningitis y septicemia, y *Neisseria gonorrhoeae* (gonococo) es el agente etiológico de la gonorrea o blenorragia, una enfermedad de transmisión sexual (ETS). Mediante la observación microscópica directa de muestras clínicas, ambos se detectan dentro o fuera de los leucocitos polimorfonucleares.

Las especies patógenas son muy exigentes, sólo se cultivan en medios enriquecidos, dentro de límites estrechos de temperatura (35 a 37 °C) y pH (7,2 a 7,6). Son sensibles a la acción de agentes externos (deshidratación, antisépticos, desinfectantes, cambios de temperatura). Para su crecimiento precisan de medios enriquecidos, humedad elevada y una atmósfera con un 5 a 10 % de CO₂. Su crecimiento se inhibe por la acción de ciertos constituyentes tóxicos del medio, por ejemplo, ácidos grasos o sales. Para contrarrestar esta situación se añaden a los medios sustancias tales como almidón, suero, albúmina y carbón.

Las especies no patógenas forman parte de la flora normal de las vías respiratorias superiores del hombre, su localización es extracelular y con raras excepciones producen enfermedad (patógenos oportunistas). En contraste con las especies patógenas, las neisserias no patógenas son poco exigentes, no precisan de medios enriquecidos, pueden crecer a 22 °C y son poco sensibles a los agentes externos. En el cuadro 24.1 se reflejan algunas características de estos microorganismos.

Desde el punto de vista genético, *Neisseria meningitidis* y *Neisseria gonorrhoeae* están estrechamente relacionadas respecto a la composición de su ADN, presentando una

Cuadro 24.1. Caracteres diferenciales de *Moraxella catarrhalis* y *Neisseria*

Especies	Crecimiento AMH + VCN	Hidrólisis de carbohidratos					GGT	Polisacáridos	Reducción		ONPG	Tributirina	Dnasa
		G	M	F	S	L			N ₀ ₃	N ₀ ₂			
<i>N. gonorrhoeae</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>N. meningitidis</i>	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-/+	-	-	-
<i>N. lactamica</i>	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-
<i>N. polysaccharea</i>	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>N. subflava</i>	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
<i>N. flava</i>	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-
<i>N. perflava</i>	-	+	+	+	+	-	-/+	-/+	-	+	-	-	-
<i>N. sicca</i>	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-
<i>N. mucosa</i>	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
<i>N. cinerea</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>N. canis</i>	-	-/+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>N. denitrificans</i>	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>N. flavescens</i>	-	-	-	-	-	-	-/+	-/+	-	+	-	-	-
<i>N. macacae</i>	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-
<i>N. elongata</i>	-	-/+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>B. catarrhalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+

AMH + VCN: Agar Mueller- Hinton + vancomicina, colistina, nistatina.

G: glucosa; M: maltosa; F: fructosa; S: sacarosa; L: lactosa.

GGT: γ -glutamyl-amino-peptidasa.

homología del 70 %. Estas especies se diferencian por algunas pruebas de laboratorio, características específicas y las manifestaciones clínicas que producen. A diferencia de los gonococos, los meningococos presentan cápsula de polisacárido y rara vez portan plásmidos de resistencia. De manera casi uniforme, *Neisseria meningitidis* coloniza las vías respiratorias superiores y puede ocasionar, posteriormente, en algunos individuos, bacteriemia y(o) infección del Sistema Nervioso Central (meningoencefalitis); en tanto que *Neisseria gonorrhoeae* provoca, fundamentalmente, una enfermedad de transmisión sexual (blenorragia o gonorrea).

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Los microorganismos típicos tienen forma esférica, son gramnegativos, se presentan aislados o en parejas (diplococos) con los lados adyacentes planos y la apariencia de granos de café. Sólo *Neisseria elongata* constituye una excepción, se presenta como bacilos cortos de 0,5 μ m, agrupados en parejas o cadenas cortas. En dependencia de la especie, fuente de aislamiento y edad del cultivo, el resto de los microorganismos muestran un diámetro entre 0,6 a 1,5 μ m. Entre otras características están las de presentar cápsulas y *pili* (fimbrias), no producir esporas y ser inmóviles.

Cultivo. Las especies patógenas del género *Neisseria* necesitan de medios de cultivo enriquecidos (agar Mueller-Hinton, agar Thayer-Martin, agar-sangre o agar-chocolate). En estos medios, *Neisseria meningitidis* y *Neisseria gonorrhoeae* forman colonias de 1 a 5 mm de diámetro, mucoides, convexas, elevadas, de aspecto transparente u opaco, no pigmentadas y no hemolíticas. *Neisseria flavescens*, *Neisseria subflava* y *Neisseria lactamica* pueden presentar pigmentación amarilla; y *Neisseria sicca* da lugar a colonias no pigmentadas, opacas, frágiles y arrugadas.

Características del crecimiento. Las neisserias son aerobias y algunas especies requieren de elementos nutricionales complejos. La mayoría degradan pocos carbohidratos y originan la producción de ácido, pero no de gas. Los patrones de fermentación que producen constituyen uno de los principales métodos para su diferenciación (Cuadro 24.1). Excepto *Neisseria elongata*, todas las especies elaboran oxidasa y catalasa, pruebas claves en la identificación del género *Neisseria*. Para efectuar la detección de producción de oxidasa, se realiza una estría de la cepa en cuestión sobre un papel de filtro impregnado con una solución acuosa al 1 % de clorhidrato de tetrametil-parafenilendiamina; inmediatamente después, las colonias oxidasa positiva, tomarán un color púrpura oscuro.

Neisseria meningitidis y *Neisseria gonorrhoeae* necesitan de medios enriquecidos con sangre, hemina, proteínas animales y(o) suplementos comerciales químicamente definidos (Isovitalex, Vitox). Para su crecimiento se incuban a 35 a 37°C y en atmósfera húmeda con 5 a 10 % de CO₂. El crecimiento de estos microorganismos se inhibe por la acción de compuestos tóxicos (ácidos grasos y sales) libres en el medio. Las neisserias patógenas son sensibles a la desecación, luz solar, calor húmedo y a la acción de los desinfectantes. Producen enzimas autolíticas que conducen a la tumefacción y lisis rápida *in vitro* a 25 °C y pH alcalino.

Conservación y transporte. Las neisserias patógenas son muy sensibles a las condiciones ambientales adversas, y a menudo hay pocos microorganismos presentes en el material clínico. Por ello, para preservar su viabilidad, las muestras clínicas y cepas aisladas deben transportarse al laboratorio con rapidez y sumo cuidado. Los métodos de elección para mantener las cepas por largos períodos son la liofilización y crioconservación (-60 a -80°C), en sangre de conejo desfibrinada, caldo peptonado, o leche descremada. Cuando no es posible utilizar estos métodos, las cepas pueden transportarse y conservarse en diferentes medios de cultivo (Transgrow, Stuart, CTA, TC), en los cuales el tiempo de viabilidad varía (horas, semanas, meses). Para su conservación y transportación, los microorganismos deben inocularse a partir de cultivos puros y jóvenes (cultivos de 18 a 24 horas). Si la cepa se encuentra en buen estado fisiológico, se obtendrán subcultivos viables.

Entre los principios generales que deben tenerse en cuenta para la conservación de estos microorganismos se citan: sensibilidad a las variaciones de pH, sensibilidad a la deshidratación, sensibilidad a variaciones de temperatura y la autólisis de las cepas (sobre todo gonococo y meningococo).

NEISSERIA GONORRHOEAE (GONOCOCO)

Es un diplococo gramnegativo, aerobio, fastidioso, sensible a los agentes externos y capaz de degradar la glucosa por oxidación. Difiere de las otras especies del género por sus características antigénicas y por producir colonias más pequeñas. Su crecimiento en medios químicamente definidos permite su clasificación en auxotipos. Estos caracteres estables se utilizan como marcadores en estudios sobre virulencia, capacidad invasiva y sensibilidad a los agentes antimicrobianos. Las cepas que requieren de arginina, hipoxantina y uracilo (cepas AHU o Arg⁻, Hyx⁻, Ura⁻) son, por lo general, sensibles a la penicilina, resistentes a la acción bactericida del suero normal y responsables de la mayoría de las infecciones localizadas en las mucosas.

Neisseria gonorrhoeae produce infecciones en la mucosa del aparato urogenital, en su mayoría de transmisión sexual, constituyendo la gonorrea la expresión clínica más frecuente. La incidencia de las infecciones gonocócicas aumenta en el mundo y paralelamente se presenta una disminución progresiva de la sensibilidad del gonococo a la penicilina.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Los gonococos son heterogéneos desde el punto de vista antigénico y sus principales estructuras superficiales se verán a continuación.

Pili

Las cepas aisladas de enfermos presentan *pili*, estructuras relacionadas con la virulencia y heterogéneas desde el punto de vista antigénico. Estas estructuras son apéndices proteicos, filamentosos, ubicados en la superficie celular. Su proteína estructural (pilina) tiene un peso molecular entre 16 000 y 22 000 y desempeñan un papel importante en la adhesión a las células epiteliales del hospedero e interfieren la fagocitosis. La secuencia de aminoácidos cercana a la parte media de la molécula de pilina es conservada, pero poco inmunogénica; mientras que la región carboxilo terminal es muy variable e inmunógena. Se observa que una misma cepa es capaz de presentar más de un tipo de *pili*, y que estas variaciones también ocurren *in vivo* cuando se aísla la misma cepa de diferentes localizaciones de un paciente.

Por (Proteína I)

Es un componente de la membrana externa y su peso molecular fluctúa entre 34 000 y 37 000. Se encuentra en trímeros formando poros en la superficie, por los cuales penetran nutrientes a la célula. Cada cepa expresa un solo tipo de proteína I (PI) y de acuerdo con esta proteína se describen varios serotipos. Existen dos clases de PI (IA y IB), estas son excluyentes en cada cepa y mediante anticuerpos monoclonales (AcMs) se pueden identificar 18 serovares del tipo IA (PorA) y 28 serovares del tipo IB (PorB). Los anticuerpos dirigidos contra la PI son bactericidas y opsonizantes, y se manifiestan en pacientes con infección gonocócica no complicada, enfermedad inflamatoria e infecciones diseminadas. Por estar ubicada en la superficie externa celular, su poca variabilidad genética y las características de su respuesta inmune, hacen de la PI un posible candidato para el ensayo de vacunas.

Opa (Proteína II)

Es una proteína modificable por el calor; presenta un peso molecular entre 24 000 y 32 000; se halla en la superficie bacteriana; determina la morfología colonial y se asocia con la virulencia del gonococo, al permitir la adherencia a las células epiteliales del hospedero y resistir la actividad bactericida de los leucocitos polimorfonucleares y del suero normal. Debido a su variabilidad genética intra e intercepas, no se ha podido definir el papel biológico de los anticuerpos anti-PII en la infección gonocócica. La expresión cambiante de la proteína Opa le permite al gonococo evadir la respuesta inmune.

Rmp (Proteína III)

La Rmp (PIII) no es modificable por el calor, no sufre variaciones y se encuentra en todas las cepas. Se relaciona con la PI en la formación de poros en la superficie celular; tiene un peso molecular aproximado de 33 000; está antigénicamente conservada y de ella sólo se describe un serotipo. Se desconoce su papel biológico, aunque estudios *in vitro* demuestran que la IgG de origen humano, dirigida contra esta proteína, bloquea la actividad bactericida de otras inmunoglobulinas contra antígenos gonocócicos.

Lipooligosacáridos (LOS)

Su peso molecular fluctúa entre 3 000 y 7 000, no tiene cadenas laterales o antigénicas largas y es inmunogénico. Los anticuerpos anti-LOS (IgM e IgG) son bactericidas, fijan el complemento y producen quimiotaxis de los leucocitos polimorfonucleares. Existen seis tipos de LOS bien identificados, demostrándose que los gonococos manifiestan formas antigénicas múltiples, según el sitio de desarrollo.

Otras proteínas

Diversas proteínas conservadas desde el punto de vista antigénico tienen funciones pobremente definidas en la patogenia de la enfermedad y el papel de los anticuerpos contra dichos antígenos aún no está bien definido; tal es el caso de la proteína Lip (H8) y la Fbp (proteína regulada por el hierro), semejante en su peso molecular a la Por, y que se expresa cuando se limita el suministro de hierro. Al igual que *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae*, los gonococos producen una proteasa (IgA1) que desdobra e inactiva a la IgA1, inmunoglobulina importante de la mucosa humana.

HETEROGENEIDAD GENÉTICA Y ANTIGÉNICA

Dentro de una misma molécula se producen cambios frecuentes de una forma antigénica a otra. Esto sucede en uno de cada 10^3 microorganismos, índice rápido de cambio para las

bacterias. Dado que la pilina, Opa y LOS se hallan en la superficie celular, tienen importancia en la respuesta inmune a la infección gonocócica. El cambio rápido de la molécula de una forma antigénica a otra ayuda a eludir el sistema inmune del hospedero; el mecanismo de cambio para la pilina es diferente del mecanismo de cambio para la Opa.

Los gonococos poseen múltiples genes para codificar pilina, pero sólo uno se inserta en el sitio de expresión, de donde pueden remover todo o parte de este gen para pilina y remplazarlo por todo o parte de otro gen para esta sustancia. Este mecanismo les permite expresar muchas moléculas de pilina con estructuras antigénicas diferentes.

El mecanismo de cambio de Opa comprende la adición o eliminación del ADN, de una o más de las repeticiones pentaméricas codificadoras que preceden a la secuencia que codifica al gen estructural de Opa. Se desconoce el mecanismo de cambio del LOS.

Los gonococos presentan varios plásmidos, el 95 % de las cepas muestran un plásmido "críptico", pequeño ($PM\ 2,4 \times 10^6$), cuya función se desconoce. Se describen también otros dos plásmidos ($PM\ 3,4 \times 10^6$ y $4,7 \times 10^6$) que poseen genes, los cuales codifican la producción de β -lactamasa que les confiere resistencia a la penicilina. Estos se transfieren por conjugación, tienen semejanza con un plásmido detectado en *Haemophilus* y es posible que se adquieran de este u otro microorganismo gramnegativo. Del 5 al 20 % de los gonococos contienen un plásmido ($PM\ 24,5 \times 10^6$) con genes que codifican la conjugación, este es más frecuente en las áreas donde son comunes las cepas productoras de penicilinas. De manera experimental se puede desarrollar resistencia a la tetraciclina, mediante la inserción de un gen estreptocócico que codifica para la resistencia a este antibiótico, dentro de un plásmido conjugativo.

PATOGENIA Y PATOLOGÍA

Los gonococos presentan varios tipos de colonias, pero sólo suelen ser virulentas las bacterias piliadas de colonias pequeñas. Los que forman colonias opacas y expresan Opa, se aíslan de casos con uretritis sintomática y de cultivos del cuello uterino obtenidos en la mitad del ciclo menstrual. Los que dan lugar a colonias transparentes, frecuentemente se aíslan de varones con infección uretral asintomática, en mujeres que menstrúan, y en formas invasivas de gonorrea (salpingitis e infección diseminada). En las mujeres, el tipo de colonia puede cambiar durante el ciclo menstrual.

Los gonococos muestran afinidad por las mucosas, especialmente el epitelio escamoso columnar de la uretra y del cérvix; puede infectar las glándulas de Bartholino, la conjuntiva y el recto. Además, afectan el epitelio estratificado blando de mujeres jóvenes, mientras que la vagina y vulva de mujeres adultas resultan menos susceptibles. En las mucosas de las vías genitales, ojo, recto y garganta, suelen producir supuración aguda e invasión hística, a continuación sobrevienen la inflamación crónica y la fibrosis.

En la uretritis gonocócica, aproximadamente al tercer día de la infección, los microorganismos invaden la mucosa de la uretra y se adhieren a las células epiteliales mediante pili, proteínas y LOS; luego alcanzan el tejido conectivo subepitelial a través de los intersticios celulares y endocitosis mediada por la PI. En ese momento los capilares se dilatan, se produce un exudado de células y suero, y aparecen infiltraciones de polimorfonucleares, células plásticas y mastocitos. En el varón, el proceso inflamatorio puede extenderse hasta el epidídimo y al ceder la supuración sobreviene la fibrosis con estrechez uretral. En el 5 % de los casos, la infección uretral puede ser asintomática.

En la mujer, la infección puede ascender hasta los anejos desde la uretra y vagina, producir cervicitis, endometritis, salpingitis, piovario y peritonitis. La fibrosis y obliteración de las trompas uterinas pueden ocasionar esterilidad en un 20 % de las mujeres con salpingitis gonocócica.

En el 1 % de las infecciones no tratadas, el microorganismo puede diseminarse al torrente sanguíneo. La bacteriemia gonocócica produce lesiones cutáneas (pápulas, pústulas hemorrágicas) en manos, antebrazos, pies y piernas. Además, puede ocasionar artritis y tenosinovitis; en raras ocasiones se presentan casos de meningitis e infecciones oculares en el adulto.

Durante el paso del feto por el canal del parto infectado, el recién nacido puede adquirir una oftalmía neonatal gonocócica u oftalmía *neonatorum*. La conjuntivitis progresa con

rapidez y sin el tratamiento específico conduce a la ceguera. Para su prevención se aplica en el saco conjuntival del neonato, nitrato de plata al 1 %, pomada de tetraciclina o eritromicina.

Los gonococos que producen infección localizada suelen ser sensibles al suero, pero relativamente resistentes a los antimicrobianos. En contraste, los que invaden la sangre y causan infección diseminada suelen ser resistentes al suero, pero sensibles a la penicilina y a otros antimicrobianos.

CUADRO CLÍNICO

El espectro clínico es muy amplio. Entre el 3 y el 12 % de los varones, la infección puede ser asintomática y localizarse en las mucosas de la uretra, recto y orofaringe. Estos casos constituyen un grupo importante en la transmisión de la enfermedad. En la mujer, la ausencia de síntomas específicos no permite hacer el diagnóstico y la incidencia de infecciones asintomáticas es muy alta. La infección del recto y orofaringe se presenta en ambos sexos y está relacionada con contactos sexuales anales o bucales. La conjuntiva del recién nacido se infecta al pasar el feto por el canal del parto de una madre con infección gonocócica cervical.

Sin tratamiento adecuado, la infección gonocócica se disemina por continuidad y puede provocar manifestaciones clínicas en sitios vecinos (epididimitis, salpingitis, linfangitis, abscesos), o puede alcanzar el torrente sanguíneo, dando lugar a manifestaciones cutáneas, artritis, endocarditis y meningitis.

En el varón, 2 a 5 días después del contacto sexual, se presenta secreción purulenta en la uretra, prurito y micción dolorosa. Posteriormente, esta secreción aumenta y los síntomas se intensifican. El cuadro clínico puede limitarse a una uretritis anterior aguda o extenderse a estructuras vecinas. En pacientes sin un tratamiento específico, las complicaciones más frecuentes son la estenosis uretral, epididimitis, orquitis, prostatitis e infertilidad.

En la mujer, la infección se localiza en el epitelio columnar del endocérvix (endocervicitis) y a diferencia del varón, los síntomas y signos no están bien definidos. Se presentan síntomas discretos o no específicos (disuria, leucorrea, prurito genital y dolor abdominal), algunas presentan uretritis y bartolinitis. No obstante, en el 50 % de los casos, la infección suele ser asintomática. La infección ascendente constituye un grave problema, del 10 a 17 % desarrollan salpingitis aguda, y dentro de estas, el 20 % puede quedar estéril. La enfermedad inflamatoria pélvica (EIP) abarca la endometritis, salpingitis y peritonitis; estas resultan difíciles de diferenciar clínicamente y pueden presentarse de forma simultánea.

La infección del recto se produce por inoculación directa del gonococo en los individuos que practican relaciones sexuales anales. Se notifica el 1 % en heterosexuales y el 33 % en homosexuales. La infección orofaríngea aumenta en los últimos años, alcanza el 15 % en heterosexuales y el 30 % en homosexuales. La infección ocular en el adulto es poco frecuente, puede producirse por autoinoculación, a partir de secreciones de la uretra y(o) cérvix. Debido a la profilaxis que se realiza en las conjuntivas de los niños al nacer, la oftalmía neonatal es infrecuente.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO

Muestras. Los instrumentos a utilizar (especulo, anoscopio) en la toma de muestras deben lubricarse sólo con agua tibia; el empleo de algunos lubricantes químicos resulta tóxico para el gonococo. Los hisopos de algodón se emplean cuando la muestra se transfiere inmediatamente a un medio de transporte, o cuando se realiza la inoculación directa sobre los medios para el aislamiento primario. Resultan útiles los hisopos de alginato de calcio, ya que estos no presentan sustancias inhibitorias entre sus componentes.

Los productos patológicos útiles son: exudados y secreciones de la uretra, endocérvix, faringe, conjuntiva, recto, aspirados de las glándulas de Bartholino, líquido sinovial y sangre. En hemocultivo se deben utilizar medios sin polianetol sulfonato de sodio, sustancia que impide la viabilidad de este microorganismo.

Frotis. El examen directo de las secreciones genitales por tinción de Gram es útil para el diagnóstico de la gonorrea y permite el diagnóstico presuntivo, siempre que se observen los

típicos diplococos gramnegativos arriñonados en el interior de los polimorfonucleares. En el varón, presenta una sensibilidad del 96 % con un 99 % de especificidad. En la mujer, si el frotis endocervical se realiza por un microscopista experimentado, tiene una sensibilidad menor (40 al 50 %) y una especificidad del 95 %. El frotis de la conjuntiva puede ser útil, no sucede así en las muestras de la garganta o del recto.

Cultivo. El cultivo se necesita para confirmar el diagnóstico, especialmente cuando se trata de muestras obtenidas de la mujer. Las secreciones de sitios con flora bacteriana asociada se inoculan en medios selectivos enriquecidos (Thayer-Martin, New York City). En ambos, la selectividad se logra por la adición de sustancias antimicrobianas. En el Thayer-Martin se emplean: vancomicina (3 µg/mL), colistina (7,5 µg/mL), nistatina (12,5 µg/mL) y lactato de trimetoprim (5 µg/mL). Estos inhiben el crecimiento de neisserias no patógenas (excepto *Neisseria lactamica* y *Neisseria polysaccharea*) y otros comensales que contaminan las muestras de la faringe, endocérvix y recto. Por ser *Neisseria gonorrhoeae* sensible a condiciones ambientales adversas, las muestras deben procesarse inmediatamente, de lo contrario, se recomienda su inoculación en medios destinados al transporte de las mismas.

La incubación se realiza a 35 °C durante 24 a 48 horas, en atmósfera húmeda con 5 % de CO₂. Posteriormente, los gonococos se identifican por su aspecto en la tinción de Gram, reacción positiva a la oxidasa y catalasa, sus características culturales y la degradación de los azúcares (glucosa positiva), u otras pruebas disponibles (coaglutinación, inmunofluorescencia, auxotipaje).

Las colonias tienen un tamaño entre 0,5 a 1 mm, con aspecto mucosoide convexas, brillantes, elevadas, cremosas, de bordes enteros y color blanco-grisáceo. En cultivos viejos, las colonias son más grandes y desarrollan bordes crenados y superficie rugosa. En dependencia de la morfología colonial se describen cinco tipos de colonia: T1 y T2 (presentan *pili*), T3, T4 y T5 (no presentan *pili*). Las primeras son pequeñas (0,5 mm) y brillantes, mientras que las segundas son grandes (1,0-1,2 mm), planas y casi incoloras.

Para la caracterización de cepas se utiliza el auxotipaje, seroagrupamiento, serotipaje, estudio de los perfiles plasmídicos y las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Estas brindan importante información desde el punto de vista epidemiológico y permiten diferenciar las cepas entre sí. A las cepas aisladas se les deben realizar pruebas de susceptibilidad frente a diferentes antimicrobianos, en especial a la penicilina, y debe investigarse también la detección de β-lactamasa.

En ocasiones, existen dificultades con relación a los métodos utilizados en el diagnóstico convencional. Estos problemas se refieren a la baja sensibilidad de la microscopia directa en muestras pertenecientes a pacientes del sexo femenino, a dificultades con el cultivo en muestras de infecciones extragenitales y casos previamente tratados con antimicrobianos, a la pérdida de la viabilidad durante la transportación, la inhibición del crecimiento por los componentes del medio y la necesidad de confirmar los aislamientos sospechosos mediante métodos adicionales.

En los últimos años se desarrollan técnicas moleculares que permiten confirmar el diagnóstico a partir de cultivos o muestras clínicas, entre estas se señalan las pruebas de hibridación y amplificación del ADN. Por su sensibilidad y rapidez ocupan un lugar importante respecto al resto de los métodos.

SEROLOGÍA

El suero humano normal tiene la capacidad de destruir gérmenes gramnegativos y entre estas a *Neisseria gonorrhoeae*. Este efecto protector natural depende de la activación del complemento y de los anticuerpos IgG e IgM. En el caso del gonococo, los blancos de los anticuerpos son: LOS, la PI y otras proteínas de su superficie celular. Para sobrevivir en el torrente circulatorio, los gonococos deben evadir este mecanismo de defensa. En el suero y secreciones genitales se detectan anticuerpos IgG e IgA contra *pili* gonocócicos, proteínas de membrana externa (PMEs) y LOS. Algunas IgM del suero humano son bactericidas para *Neisseria gonorrhoeae in vitro*. Mediante pruebas de mancha inmunitaria, radioinmuno-investigación y ELISA, en personas enfermas se detectan anticuerpos contra *pili* y PMEs de gonococo. Sin embargo, no tienen utilidad como métodos auxiliares diagnósticos. Las difi-

cultades se basan en la diversidad antigénica de las cepas, la demora en el desarrollo de anticuerpos en los casos de infección aguda y en el gran nivel de fondo de anticuerpos que existe en la población sexualmente activa.

INMUNIDAD

Como consecuencia de la infección por gonococo se puede demostrar la presencia de anticuerpos bactericidas, locales (IgA) y séricos (IgG, IgM), sobre todo cuando la infección presenta cierta duración o gravedad. La heterogeneidad antigénica del gonococo explica la posibilidad de infecciones repetidas a partir de pacientes infectados con cepas de distinta composición antigénica e, incluso, a partir de un mismo caso como consecuencia de la variabilidad antigénica de una misma cepa.

TRATAMIENTO

El tratamiento de las infecciones gonocócicas se centra en el empleo de antimicrobianos capaces de actuar sobre las cepas resistentes a la penicilina, las productoras de penicilinasas y sobre cepas resistentes a la tetraciclina. Se sugiere la administración del antibiótico en una sola dosis; esta forma de administración ocasiona menos efectos secundarios y tiene un menor costo. Por el gran uso de la penicilina, la resistencia se eleva por selección de mutantes cromosómicos. Actualmente, existen cepas que se inhiben con concentraciones elevadas de penicilina G (CMI $\geq 1 \mu\text{g/mL}$). Aumentan también las productoras de penicilinasas (PPNG) y se detectan cepas con resistencia mediada por cromosomas a la tetraciclina (CMI $\geq 1 \mu\text{g/mL}$). Desde 1985 se reporta en los Estados Unidos, el aislamiento de gonococos con altos niveles de resistencia a la tetraciclina (CMI $\geq 32 \mu\text{g/mL}$), esta se debe a la adquisición de un plásmido y se les denomina TRNG; también existe resistencia a la espectinomomicina y ciprofloxacina.

En general, las cepas con mutaciones a nivel del cromosoma presentan un bajo nivel de resistencia a la penicilina y tetraciclina (CMIs 2-4 $\mu\text{g/mL}$). Por otro lado, la resistencia mediada por plásmidos se asocia a un alto nivel de resistencia en ambos agentes antimicrobianos. En 1989, debido al aumento de cepas PPNG, TRNG y CMRNG, la OMS recomienda la administración de ceftriaxona como tratamiento de elección en la gonorrea. Como drogas alternativas se describen: espectinomomicina, ciprofloxacina, cefuroxima más probenecid y cefotaxima. Si la infección es por una cepa no resistente a la penicilina, puede emplearse la amoxicilina más probenecid.

EPIDEMIOLOGÍA, PREVENCIÓN Y CONTROL

En la I y II Guerra Mundial se reporta una elevada incidencia de infecciones por gonococos. La administración masiva de penicilina a partir de los años 1945-1950 conduce a una disminución del número de enfermos. Sin embargo, durante los años 1960-1970, aumentan los casos en todo el mundo y se reportan tasas hasta 500 por 100 000 habitantes por año (Suecia, Estados Unidos). A partir de los años 1970-1980, existe un descenso en los países occidentales, este descenso aumenta a partir de los años 1980-1990 y se atribuye a la prevención individual para reducir el riesgo de infección por VIH. No obstante, la gonorrea aún presenta una amplia distribución mundial y su frecuencia se acentúa por el incremento de la promiscuidad en la población sexualmente activa, la prostitución y falta de educación sexual.

En Estados Unidos ocurren brotes por cepas PPNG; en Europa, la prevalencia de estas se mantiene en alrededor del 35 % y en África asciende al 70 %. La gonorrea se transmite casi exclusivamente por contacto sexual, a menudo por individuos con infecciones asintomáticas y existe en la población un alto riesgo de contraer la enfermedad. En la mujer, este riesgo se calcula entre un 50 a un 70 %, y para el varón, la posibilidad de infección tras una sola exposición con un compañero sexual infectado es del 20 al 30 %.

El principal problema epidemiológico de estas infecciones radica en la aparición periódica de resistencia a los agentes antimicrobianos. Las cepas PPNG aparecen en el año 1976 y

luego se dispersan en el mundo. Áreas con alta incidencia existen en Asia, África y Estados Unidos. Los brotes de cepas PPNG provocan cambios en las pautas terapéuticas.

La profilaxis de las infecciones por gonococo radica en la eliminación de las fuentes de infección, esta comprende: el diagnóstico y tratamiento precoz de los casos, la investigación y tratamiento de los contactos, realizar exámenes periódicos en poblaciones de riesgo y mantener la educación sanitaria de la población, señalando la importancia del diagnóstico y tratamiento precoz, tanto en enfermos como en los contactos.

La profilaxis mecánica individual (condón) brinda protección parcial y la quimioprofilaxis tiene valor limitado por la resistencia del gonococo a los antimicrobianos. La prevención de las infecciones por gonococo dependerá del conocimiento y la actitud particular que sobre estas tenga el individuo, y de las estrategias que cree y promocióne la comunidad, como programas de educación e información para limitar la infección en los grupos de riesgo (adolescentes, heterosexuales promiscuos, homosexuales, prostitutas) y en el resto de la población.

La oftalmía *neonatorum* se evita con la instilación en la conjuntiva del recién nacido de una gota de nitrato de plata al 1 % (método de Credé). Aunque resulta eficaz y constituye el método clásico, este compuesto resulta difícil de almacenar y puede provocar irritación conjuntival. Por estos inconvenientes, se puede aplicar ungüento oftálmico de eritromicina al 0,5 %, o tetraciclina al 1 % durante la primera hora después del nacimiento.

Hasta la fecha no existen vacunas contra gonococos, aunque se demuestra que la inmunización por vía parenteral induce, al nivel de las mucosas, un aumento específico de la resistencia frente a cepas homólogas. Su variabilidad antigénica constituye el principal obstáculo para lograr una vacuna eficaz. Se encuentran en períodos de ensayo preparados vacunales elaborados a partir de fimbrias purificadas y PME; se estudia, además, la posibilidad de emplear otros antígenos.

NEISSERIA MENINGITIDIS (MENINGOCOCO)

Es un diplococo gramnegativo perteneciente al género *Neisseria* (oxidasa y catalasa positivas), se caracteriza por su difícil crecimiento y sensibilidad a los agentes externos. La mayoría de las cepas degradan la glucosa y la maltosa por oxidación, aunque se describen cepas que presentan patrones diferentes (cepas deficientes). Es un parásito de la mucosa de las vías respiratorias superiores del hombre y produce cuadros clínicos diversos, donde la meningitis cerebroespinal epidémica ocupa un lugar destacado.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Tres familias de compuestos independientes desde el punto de vista genético constituyen los elementos más significativos de su pared celular. Estas estructuras desempeñan un papel importante en la inmunidad y muestran la complejidad de este microorganismo y la de su epidemiología. Las diferencias antigénicas de estas estructuras se emplean en su caracterización fenotípica.

Polisacárido capsular (PC)

El PC está presente en la mayoría de las cepas, se considera un factor de virulencia por sus propiedades antifagocíticas, antiopsónicas y antibactericidas. *Neisseria meningitidis* se clasifica en 12 serogrupos (A, B, C, X, Y, Z, 29E, W135, H, I, K y L) de acuerdo con las diferencias estructurales de sus PCs. Estos serogrupos se identifican mediante reacciones de aglutinación con antisueros específicos y se reconocen con letra mayúscula; algunos no aceptan el serogrupo D (por haber perdido su cápsula), esto lo convierte en una cepa no agrupable (NA). Los serogrupos A, B y C provocan el 90 % de casos de enfermedad meningocócica (EM) que se reportan en el mundo; mientras que los serogrupos Y y W-135 causan el resto. Los serogrupos B y C poseen ácido siálico en su cápsula polisacáridica, hecho que les confiere resistencia contra los mecanismos inmunológicos mediados por el complemento. Los grupos B y C han provocado epidemias importantes en las últimas déca-

das en: España, Reino Unido, Francia, Noruega, Chile, Colombia, Uruguay, Argentina, Brasil, Canadá, Estados Unidos, Cuba y Nueva Zelanda. Sin embargo, el serogrupo A permanece actualmente confinado al continente asiático y africano. Los serogrupos H, I, K y L sólo se aíslan de portadores; las cepas NA se aíslan de la nasofaringe, mientras que las que se recuperan del torrente sanguíneo y líquido cefalorraquídeo (LCR) son todas capsuladas; esto sugiere la importancia del PC como un atributo de patogenicidad.

Proteínas de la membrana externa (PMEs)

Neisseria meningitidis se clasifica en serotipos y subtipos teniendo en cuenta la especificidad antigénica de sus antígenos proteicos. Según su peso molecular se identifican cinco clases de proteínas mayoritarias (1-5). Las PMEs se localizan en la cubierta externa, constituyen marcadores epidemiológicos y se consideran buenos inmunógenos. Se demuestra que las proteínas clase 1 (PorA) y las de clase 2/3 (PorB), son porinas que permiten el paso de iones a través de la membrana celular. A diferencia de las de clase 2/3 (mutuamente excluyentes), las PMEs clase 1 son variables y presentan variabilidad genética en una misma cepa como resultado de mutaciones en el gen PorA. Las variaciones antigénicas en las PMEs clase 2/3 y clase 1 establecen las bases de la serotipificación y subtipificación respectivamente. Los serotipos y subtipos se designan por números arábigos, pero el número correspondiente al subtipo va precedido del prefijo "P1" (Cuadro 24.2). Los sero/subtipos se identifican por ELISA de células enteras con AcMs; las cepas que no reaccionan con los AcMs disponibles se denominan no tipables (NT), o no subtipables (NST). Hasta la fecha se definen 22 serotipos, algunos (2, 4 y 15) se relacionan con epidemias. En 1995 se describe en la República de Checoslovaquia un nuevo serotipo (22), el que sólo se detecta hasta la fecha en cepas de los serogrupos B, C y NT que circulan en Europa Central.

Las PMEs clase 1 poseen dos regiones variables (RV1 y RV2), cada una determinada por subtipos diferentes. Por lo tanto, las cepas que poseen PMEs clase 1 se pueden caracterizar por la combinación de subtipos de dos regiones variables diferentes (Cuadro 24.2).

La PME clase 4 (Rmp) muestra homología con la OmpA de *Escherichia coli*, y las PMEs clase 5 (Opa y Opc) desempeñan un papel importante en la adhesión e invasión a las células del hospedero.

Neisseria meningitidis produce una proteína en condiciones de baja disponibilidad de hierro (FrpA). Esta favorece la obtención del hierro contenido en las proteínas de la sangre, lo cual facilita la accesibilidad a este importante nutriente, necesario para el crecimiento de este microorganismo. Además, el meningococo expresa otras proteínas (Lip y Laz) cuya función no se conoce y las AniA y las CtrA, vinculadas con la excreción del PC.

Lipooligosacáridos (LOS)

Se localizan junto con las PMEs de la pared celular, participan en la producción de anticuerpos relacionados con la inmunidad natural adquirida y posibilitan la clasificación de las cepas en inmunotipos. Su composición química es antigénicamente diversa y al igual que las PMEs su identificación sirve de base a los métodos de inmunotipaje. Se han descrito 13 inmunotipos diferentes (L1-L13) (Cuadro 24.2), sólo L12 y L13 no tienen bien establecida su verdadera existencia. Las cepas de meningococo pueden expresar más de un determinante de inmunotipo y la diferencia entre ellos radica en la parte oligosacárida.

Tomando en consideración estos elementos, Frasch y otros investigadores proponen una nomenclatura uniforme. Para la designación de los antígenos de superficie se utiliza un esquema similar al de *E. coli*. Una cepa de *Neisseria meningitidis* se caracteriza por la combinación del serogrupo, serotipo, subtipo e inmunotipo y a esta combinación se denomina *fenotipo*. Las diferencias antigénicas en las PMEs clase 2/3 se emplean para distinguir el serotipo; las diferencias en las PMEs clase 1 para los subtipos y las diferencias de LOS para identificar inmunotipos. Aplicando este esquema, una cepa de meningococo se clasifica como sigue: B:4:P1.15,19:L:3,7,9. Donde: B = serogrupo; 4 = serotipo; 15,19 = subtipos; L:3,7,9 = inmunotipos.

Muy recientemente se han empleado y propuesto estudios de la secuenciación de varios genes, que incluyen genes estructurales y los relacionados con la virulencia. El

resultado de estos métodos es compatible con los obtenidos por electroforesis de enzimas, y pueden, adicionalmente, ser estandarizados entre diferentes laboratorios, lo que proporcionaría un valioso esquema para los estudios genéticos de este microorganismo.

Cuadro 24.2. Estructuras superficiales de cepas de *Neisseria meningitidis* y caracterización fenotípica

Estructura superficial	Designación	Clasificación
PCs	Serogrupo	A, B, C, X, Y, Z, 29E, W-135, H, I, K, L
PMEs clase 2/3	Serotipo	1, 2a, 2b, 2c, 4, 14, 15, 16
PMEs clase 1 (RV1)	Subtipo	P1.5, P1.7, P1.12
PMEs clase 1 (RV2)	Subtipo	P1.1, P1.2, P1.3, P1.4, P1.10, P1.14, P1.15, P1.16
LOS	Inmunotipo	L:1 – L:13

PCs: polisacáridos capsulares.

PMEs: proteínas de membrana externa.

RV: región variable.

LOS: lipooligosacáridos.

PATOGENIA Y PATOLOGÍA

La superficie mucosa del tracto respiratorio superior del hombre, principalmente la nasofaringe, es el único hábitat y reservorio de *Neisseria meningitidis*, aunque apenas el 33 % de los individuos infectados presentan signos de faringitis. El estado de portador no conduce generalmente al cuadro clínico de la enfermedad meningocócica (EM). En períodos no epidémicos, un porcentaje variable de la población adulta puede estar colonizada por un espacio de tiempo variable. En el caso del serogrupo B, el estado de portador puede prolongarse durante varios meses.

Neisseria meningitidis se transmite de persona a persona a través de las secreciones del tracto respiratorio superior. Para establecerse a este nivel, debe evadir la acción de la IgA secretora (mediante IgA proteasas) y la acción de los cilios de la mucosa. Se citan factores predisponentes, entre estos se encuentran: edad, sexo, hábito de fumar, amigdalectomía, hacinamiento, papel de la flora bacteriana acompañante e infecciones respiratorias por virus y micoplasmas.

Los meningococos dañan las células nasofaríngeas ciliadas mediante una toxina soluble. Después, se adhieren a las células no ciliadas por medio de adhesinas, penetran las mucosas por endocitosis, y una vez que atraviesan del extremo apical al basal de la célula epitelial, llegan con facilidad al torrente circulatorio. En el espacio intravascular, la defensa principal del hospedero es el sistema del complemento. La vía clásica requiere la presencia de anticuerpos específicos, mediante estos se activa la cascada del complemento, que conduce finalmente a la lisis de las bacterias. Cuando el hospedero carece de anticuerpos específicos, depende para su defensa de la vía alternativa del complemento. La capacidad de evadir esta vía le permite sobrevivir en el torrente sanguíneo.

Para que ocurra meningitis se necesita que el germen atraviese la barrera hematoencefálica (BHE), e induzca una respuesta inflamatoria en el espacio subaracnoideo. Los mecanismos exactos por los cuales la bacteria alcanza el LCR no están esclarecidos. La alta incidencia de meningitis en el desarrollo de la EM, sugiere que este microorganismo ha desarrollado una vía muy eficiente para burlar la BHE. Estudios de microscopía electrónica demuestran la presencia de bacterias en el interior de las células, esto habla en favor de que la vía transcelular sea la más aceptada. Esta teoría se corrobora por la demostración de microorganismos en el interior de las células endoteliales de los capilares del cerebro. Las evidencias *in vivo* e *in vitro* suponen que atraviesa la BHE de forma directa a través de los capilares meníngeos usando la ruta transcelular.

Este microorganismo se multiplica en el LCR por ser este pobre en opsoninas; en el LCR se produce inflamación de las meninges y liberación de LOS. Estas endotoxinas provocan la liberación de mediadores endógenos (factor de necrosis tumoral, e interleucinas), los que determinan la ruptura de la BHE y la aparición del edema cerebral por la exudación de albúmina.

En una fase avanzada, los mediadores mencionados inducen la activación de neutrófilos con producción de sustancias tóxicas que aumentan el daño de la BHE. Se activan otros

mediadores que actúan sobre el miocardio, sistema vascular y órganos vitales, lo que conduce al shock y fallo multiórgano.

DATOS CLÍNICOS

En la nasofaringe, los meningococos pueden formar parte de la flora transitoria sin producir síntomas, u ocasionar signos de faringitis. Ya en el torrente sanguíneo producen meningococemia y cuando esto sucede, el paciente presenta fiebre elevada, escalofríos, malestar general, dolor muscular en la región lumbar y pantorrillas. Sin embargo, los signos más llamativos son los cutáneos; la aparición de petequias en axilas, muñecas, tobillos, o conjuntiva, constituye un signo que traduce un proceso de coagulación intravascular diseminada y colapso circulatorio (síndrome de Waterhouse-Friderichsen). Esta enfermedad afecta, sobre todo, a lactantes y niños de corta edad, y en el transcurso de pocas horas conduce a la muerte. La púrpura se acompaña de hemorragias mucosas y de órganos internos, entre los que se destacan las suprarrenales.

La meningitis es la complicación más común de la meningococemia. Se inicia de forma súbita, con fiebre elevada, cefalea intensa, vómitos, rigidez de nuca, hiperreflexia, convulsiones y puede progresar al coma en pocas horas. En los casos de meningitis, se inflaman las meninges, con trombosis de los vasos sanguíneos y exudación de leucocitos polimorfonucleares, de modo que la superficie del cerebro se cubre por un exudado purulento espeso.

No se conoce con exactitud por qué una infección asintomática de la nasofaringe se puede transformar en meningococemia y(o) meningitis, pero este fenómeno puede prevenirse mediante la presencia de anticuerpos séricos bactericidas específicos contra el agente causal. La bacteriemia se favorece por la ausencia de anticuerpos bactericidas (IgM e IgG), inhibición de la acción bactericida sérica por un anticuerpo IgA de bloqueo, o por deficiencias del complemento (C5, C6, C7, C8).

Neisseria meningitidis puede producir: artritis, sinusitis, conjuntivitis, endocarditis y neumonías. Se detecta también en el cuello uterino, vagina, y en homosexuales se aísla del canal anal (proctitis) y la uretra (uretritis).

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO

Muestras. *Neisseria meningitidis* es frágil y pierde su viabilidad fácilmente. La recolección y manipulación de las muestras debe realizarse con cuidado. Si se envían de forma inmediata al laboratorio y se obtienen antes de administrar tratamiento con antimicrobianos, existen mayores porcentajes de viabilidad. Deben mantenerse entre 35 y 37 °C y procesarse en un período no mayor de 2 a 3 horas. En dependencia del cuadro clínico, las muestras útiles en los enfermos son: sangre, LCR y aspirados de petequias, o biopsias. Además: líquidos (articular, sinovial, pleural), exudados (conjuntival, rectal, uretral, nasofaríngeo) y esputo. Cuando se investigan portadores se realiza exudado nasofaríngeo.

Frotis. El examen microscópico directo de los fluidos corporales, exudados y tejidos por tinción de Gram permite visualizar los típicos diplococos arriñonados intra y extracelulares.

Cultivo. *Neisseria meningitidis* no es tan exigente como el gonococo en sus requerimientos nutricionales; para cultivos de muestras normalmente estériles, se emplean el agar-sangre, agar-chocolate y(o) el agar y caldo Mueller-Hinton, que contienen almidón entre sus componentes, garantizando así la adsorción de ácidos grasos y sales, sustancias que pueden inhibir el crecimiento de neisserias patógenas. Por otro lado, el agar Thayer-Martin se utiliza en el aislamiento de meningococos a partir de muestras con flora bacteriana acompañante (exudados nasofaríngeo, rectal, conjuntival). Para este propósito se adicionan al medio de cultivo, antibióticos como vancomicina, nistatina y colistina (VCN). Al Thayer-Martin se le añaden, también, sustancias activas químicamente definidas que favorecen el crecimiento de gérmenes exigentes. Para el hemocultivo se emplean caldos sin polianetol sulfonato de sodio.

En los medios sólidos, el meningococo produce colonias transparentes, no pigmentadas, no hemolíticas, mucoides, convexas y de un diámetro entre 1 y 5 mm. Las condiciones

óptimas de crecimiento se logran en atmósfera húmeda de 35 a 37°C y con 5 o 10 % de CO₂. Las colonias pertenecientes a microorganismos oxidasa y catalasa positivas, y que morfológicamente se correspondan con diplococos gramnegativos, pertenecen al género *Neisseria*. Luego, se realizan las diferentes pruebas de identificación que permiten definir la especie (Cuadro 24.1). *Neisseria meningitidis* degrada la glucosa y la maltosa, dando lugar a ácido, sin formación de gas. La seroagrupación se realiza mediante aglutinación de la suspensión bacteriana frente a antisueros específicos de grupo. A los laboratorios especializados les corresponde completar la caracterización fenotípica por ELISA de células enteras con AcMs. La disponibilidad de técnicas moleculares permite realizar estudios de caracterización genómica.

Debido al reporte de cepas resistentes y con sensibilidad disminuida a los diferentes antimicrobianos utilizados en la terapéutica y profilaxis de la EM, se debe investigar la susceptibilidad de las cepas frente a los agentes utilizados para este propósito. En las epidemias, la resistencia a la sulfadiacina sódica constituye un importante marcador epidemiológico.

Aunque el estudio por cultivo brinda una confiabilidad del 100 %, el desarrollo de nuevas técnicas inmunológicas proporciona un diagnóstico rápido y seguro en aquellas muestras donde el microorganismo no se halle viable. Entre las técnicas que detectan antígenos solubles se encuentran: el látex, la coaglutinación con proteína A estafilocócica y la contraelectroforesis.

Los métodos moleculares se utilizan con éxito en el diagnóstico de la EM y el estudio de cepas aisladas en brotes y epidemias. La RCP se emplea en muestras clínicas y proporciona una buena sensibilidad y especificidad. Puede ser particularmente útil para confirmar el diagnóstico en casos donde el cultivo tiene poco valor, debido a la administración previa de antibióticos, o porque es pequeño el número de microorganismos presentes en la muestra.

SEROLOGÍA

La presencia de anticuerpos bactericidas en el suero se relaciona con la protección contra EM. La susceptibilidad a esta enfermedad se asocia con la ausencia de anticuerpos específicos que activan al complemento, y a través de los cuales se produce la lisis del microorganismo. El ensayo bactericida del suero (EBS) se considera la "prueba de oro" para evaluar la eficacia serológica de vacunas contra este germen. Los niveles de anticuerpos capsulares obtenidos frente a los serogrupos A y C confirman la utilidad de esta técnica. Sin embargo, existe pobre correlación entre los resultados del laboratorio y la protección clínica que se demuestra, después de aplicar vacunas compuestas por vesículas de membrana externa del serogrupo B. Por ese motivo, se desarrolla el ensayo de sangre total (EST). Este método es un modelo *ex vivo* de bacteriemia que permite evaluar la actividad bactericida de la sangre total, determinada tanto por el componente soluble como por el celular. Los resultados obtenidos en estudios del EST indican que para el serogrupo B, este ensayo es un marcador de inmunidad más sensible que el EBS. Además de estos, otros métodos se emplean para detectar anticuerpos contra los antígenos de meningococo (ELISA contra las PME y PCs, opsonofagocitosis, adherencia).

INMUNIDAD

El porcentaje de personas que presentan actividad bactericida en el suero contra meningococos, es inversamente proporcional a la incidencia de EM durante los primeros años de vida. Al nacer, el 50 % de los lactantes presentan anticuerpos bactericidas, debido a la transferencia de los anticuerpos maternos a través del cordón umbilical. La prevalencia de estos disminuye paulatinamente después del nacimiento, y alcanzan su punto mínimo entre los 6 y 12 meses de edad. Con posterioridad, ascienden hasta cerca de los 12 años de edad. En el adulto, los niveles de anticuerpos varían de acuerdo con los serogrupos. Se demuestra que los PCs de los grupos A y C son buenos inmunógenos e inducen la formación de anticuerpos bactericidas. Por el contrario, el PC del grupo B es pobre desde el punto de vista inmunogénico. Se reporta que su pobre inmunogenicidad está relacionada con su semejanza con los antígenos del hospedero.

En *Neisseria meningitidis* como en otros microorganismos, la infección natural, o la administración de antígenos purificados, originan una respuesta inmune más o menos intensa. El estado de portador desarrolla anticuerpos humorales a los antígenos capsulares y no capsulares. El anticuerpo producido es, a la vez, opsonico y bactericida, pero carece de efecto sobre la condición del portador nasofaríngeo. Esto se debe, quizá, a la acción de la IgA proteasa producida por este microorganismo. Se conoce que el estado de portador de meningococo y la presencia de *Neisseria lactamica* en la nasofaringe provocan anticuerpos protectores. Estudios prospectivos demuestran que los casos que desarrollan EM, son aquellos que carecen de anticuerpos bactericidas contra el meningococo, adquiridos por vía natural o por la aplicación de vacunas.

Se dispone de vacunas contra los PCs de los serogrupos A, C, Y y W-135. Por el pobre papel inmunogénico del PC del grupo B, muchos países investigan en vacunas compuestas por PMEs. Cuba produce la única vacuna disponible contra este serogrupo (VA-MENGOC-BC®). Esta vacuna está compuesta por PMEs purificadas del fenotipo B:4:P1.19,15:L:3,7,9. Por sus componentes y su naturaleza purificada, la vacuna es inocua y muestra protección *in vivo* e *in vitro* contra el serogrupo B.

TRATAMIENTO

El tratamiento se basa en la administración de agentes antimicrobianos junto a los medicamentos de apoyo. La penicilina constituye el antibiótico de elección. Sin embargo, cabe destacar que, desde hace algunos años, se reportan algunas cepas resistentes y con susceptibilidad disminuida a este antimicrobiano. Desde 1985, España señala una situación alarmante en el comportamiento de las cepas frente a la penicilina. A partir de esas descripciones, varios países reportan cepas moderadamente resistentes (CMI de 0,1-1 µg/mL). Este aumento parcial de la resistencia puede estar condicionado por: producción de β-lactamasa, alteraciones en la permeabilidad de la membrana citoplásmica, modificaciones en una o más proteínas fijadoras de la penicilina (PBPs) o mecanismos de resistencia adquiridos por intercambio genético horizontal y establecidos por una construcción de genes en "mosaico", que son, en general, consecuencia de procesos de recombinación entre genes homólogos. Se conoce que las neisserias comensales (*Neisseria lactamica*, *Neisseria polysaccharea*, *Neisseria flavescens*), son de modo natural moderadamente resistentes a la penicilina y que algunos fragmentos del gen PenA de estos gérmenes son idénticos a los correspondientes fragmentos del mismo gen en las cepas patógenas. Este comportamiento obliga a investigar la susceptibilidad a la penicilina y la producción de β-lactamasa en todas las cepas aisladas. El reporte de cepas moderadamente resistentes a la penicilina, conlleva a que en algunos países se preconiza el tratamiento de la EM con cefalosporinas de tercera generación.

EPIDEMIOLOGÍA, PREVENCIÓN Y CONTROL

Neisseria meningitidis es el agente causal de la meningitis cerebroespinal epidémica, enfermedad que produce una alta morbilidad y mortalidad en el mundo. La tasa de mortalidad varía según la prevalencia de la infección y las condiciones socioeconómicas de las diferentes regiones. En epidemias de países industrializados, la mortalidad fluctúa entre 7 y 10 % para las meningoencefalitis y hasta el 19 % en las meningococemias. Sin embargo, en los países del Tercer Mundo, la mortalidad de las formas septicémicas alcanza el 70 %. Se reportan diferencias en relación con los serogrupos A, B y C. Las cepas de los serogrupos B y C producen, en países desarrollados, epidemias con tasas de ataque desde 50 a 100 por 100 000 habitantes. Las cepas del serogrupo A se presentan en naciones menos desarrolladas y las tasas de ataque llegan hasta 500 por 100 000. En todos los casos, las epidemias se presentan en las poblaciones más humildes, entre quienes es frecuente el hacinamiento y malas condiciones sanitarias. Sufren epidemias de EM en los últimos años: Australia, Noruega, Holanda, China, Egipto, Arabia Saudita, Nigeria, Kenya, Burkina Faso, Canadá, Estados Unidos, Brasil, Argentina, Chile, Colombia, Nueva Zelanda, África del Sur, Zambia y Cuba.

El microorganismo coloniza la nasofaringe humana y se transmite por vía respiratoria. El estado de portador puede permanecer durante años (25 %), semanas o meses (75 %). El número de portadores en periodos no epidémicos es aproximadamente del 5 % y se eleva al 90 % en las epidemias. Se conoce poco sobre las causas que originan el estado de portador, sólo en un pequeño porcentaje de casos, el meningococo se disemina al torrente sanguíneo y causa meningococemia y(o) llega al SNC.

La EM es de distribución mundial, común en los climas templados y tropicales, y con una mayor incidencia en invierno-primavera. Pueden ocurrir casos esporádicos durante todo el año, tanto en zonas rurales como urbanas; es más frecuente entre la población infantil y adultos jóvenes, algunos señalan predilección por el sexo masculino y personas que conviven en condiciones de hacinamiento. Entre los factores que favorecen el estado de portador se señalan: hábito de fumar, fumador pasivo, hacinamiento, amigdalectomía, infecciones respiratorias de etiología viral, alcoholismo, condiciones climáticas especiales, circulación de cepas virulentas y susceptibilidad inmunológica de la población.

Hay diferencias en el potencial epidémico de las cepas serogrupos A, B y C. *Neisseria meningitidis* serogrupo A provoca epidemias con altas tasas de morbilidad y mortalidad. Su circulación predomina en la región central de África (*cinturón de la meningitis*). Esta región abarca 15 países y atraviesa el continente desde el este al oeste. En ella, las epidemias se inician en la estación seca y finalizan al comenzar las lluvias. Las tasas de ataque alcanzan cifras hasta de 1 200 casos por 100 000 habitantes. Las principales epidemias ocurren en Etiopía, Chad, Sudán y Kenya. Durante los cuatro primeros meses de 1996, la OMS reportó un total de 149 166 casos de EM y 15 783 muertes. El mayor número de casos se presentó en Burkina Faso y Nigeria; las cepas se clasificaron como A:4:P1.9 y pertenecen al complejo clonal III-1.

El serogrupo C produce enfermedad endémica en Estados Unidos, Canadá y Europa. Desde 1989 a 1992, la incidencia en Canadá presentó cifras 10 veces superiores a las reportadas con anterioridad y desde 1991 se detecta un aumento de casos asociados a la circulación de nuevas cepas en la comunidad. Mientras que la EM endémica continúa presentándose en lactantes y niños pequeños, se observa, también, un cambio de la incidencia a niños de edad escolar y adultos jóvenes. En general, los brotes suceden en comunidades pequeñas o poblaciones universitarias, en forma de pequeños picos endémicos (5 a 15 casos) y durante cortos periodos de un mismo año. Los brotes institucionales (escuelas primarias, universidades) son de corta duración y se presentan en un periodo de 1 a 2 semanas, sin aumentar de forma significativa las tasas de morbilidad y mortalidad.

El serogrupo B se describe como el más común dentro de los casos endémicos, también provoca brotes y epidemias en diversas partes del mundo. En muchas de estas epidemias prevalecen cepas pertenecientes al complejo clonal ET-5. Sin embargo, otros sero/subtipos pertenecientes al grupo B se asocian con epidemias. En Sao Paulo, desde 1988 a 1990, se produjo una epidemia por cepas del fenotipo B:4:P1.15 y el complejo ET-5. Cepas del mismo complejo clonal provocan la epidemia que comienza en Cuba a mediados de la década del 70. A diferencia de las epidemias por el serogrupo A, *Neisseria meningitidis* serogrupo B, ocasiona epidemias que se extienden durante varios años y presenta cifras de incidencia bajas o moderadas.

Cepas del fenotipo B:4:P1.15, complejo clonal ET-5, se localizan a principios de la década del 90 en Oregón, Estados Unidos. Los casos más dramáticos ocurren en niños de edad escolar y adultos jóvenes. Cepas del serogrupo B, no pertenecientes al complejo ET-5, se describen en la Florida, Missouri y Los Ángeles. Entre los países que reportan brotes importantes por el serogrupo B se encuentran: Noruega, Chile, Brasil, Nueva Zelanda y Colombia.

Recientemente, casos de EM por serogrupo Y, se describen en Illinois y Connecticut, aumentando desde el 6 % en 1991, al 29 % en 1995. La neumonía constituye la manifestación clínica más frecuente entre los enfermos por este serogrupo.

QUIMIOPROFILAXIS

La quimioprofilaxis se considera útil en el control de la EM, pero presenta limitaciones y sólo debe utilizarse en circunstancias especiales. Su objetivo es prevenir la aparición de

casos secundarios mediante la eliminación de portadores. Por ser efectiva en la prevención de casos secundarios, se inicia lo antes posible (primeras 48 horas del caso índice). El diagnóstico, tratamiento de portadores y quimioprofilaxis masiva a grupos susceptibles, en un intento por reducir el número de portadores y evitar la transmisión de la enfermedad, no ofrece buenos resultados y, como contrapartida, provoca la aparición y diseminación de cepas resistentes. Las sulfonamidas resultan útiles en su etapa inicial, pero a partir del año 1963 aparecen las cepas resistentes. Desde esa fecha, su reporte aumenta y se vincula a cepas epidémicas. Por este motivo, se abandona la sulfadiazina como quimioprofiláctico y surgen nuevos candidatos: minociclina, rifampicina, ofloxacina, ciprofloxacina y ceftriaxona; las dos últimas se describen como muy efectivas en la prevención de casos secundarios y muestran su capacidad para erradicar portadores, mediante la administración de una sola dosis.

La administración de quimioprofilácticos se realiza en contactos íntimos e individuos con un riesgo elevado de infección. Los casos secundarios aparecen dentro de los primeros 10 días del caso primario. Una vigilancia personal estrecha durante 10 días asegura el tratamiento rápido de cualquier caso que pueda aparecer en ausencia de una quimioprofilaxis eficaz. La quimioprofilaxis masiva no se recomienda para el control ni prevención de epidemias, sólo se justifica en las personas que viven en el mismo domicilio del paciente, los niños de una misma aula, los de una misma guardería infantil, los reclusos que comparten el mismo dormitorio y el personal de salud que puede tener contacto con secreciones nasofaríngeas del paciente (Cuadro 24.3).

Cuadro 24.3. Agentes antimicrobianos para la quimioprofilaxis de la enfermedad meningocócica

Nombre	Dosis (adulto)	Dosis (niño)	Ruta	Duración	Costo
Rifampicina	600 mg/12 h	10 mg/kg/12 h	Oral	2 días	Moderado
Espiramicina	1 mg/12 h	25 mg/kg/12 h	Oral	5 días	Moderado
Ciprofloxacina	500 mg	-	Oral	Una dosis	Alto
Ceftriaxona	250 mg	-	i.m.	Una dosis	Alto

i.m.: intramuscular.

INMUNOPROFILAXIS

Tras la aparición de cepas resistentes a las sulfonamidas, los esfuerzos se encaminan al desarrollo de vacunas que eviten la infección meningocócica en poblaciones de riesgo. Se demuestra que los PCs se comportan como buenos inmunógenos, e inducen la aparición de anticuerpos bactericidas específicos responsables de la inmunidad. Hasta la fecha existen vacunas de los PCs de *Neisseria meningitidis* serogrupos A, C, Y, W-135; estos preparados aparecen en el mercado de forma combinada (ejemplo: A + C). La vacuna contra el serogrupo A se emplea en varios países y demuestra su eficacia en la prevención de la meningitis epidémica y endémica en poblaciones de riesgo.

La respuesta inmune a la vacuna del grupo C es baja en niños menores de 2 años de edad; los estudios realizados indican que no es protectora por debajo de los 24 meses de vida. Otros reportan que la vacuna A + C genera anticuerpos en los lactantes, pero que estos son significativamente más bajos que los que se detectan en niños mayores.

Por ser el PC del serogrupo B pobre desde el punto de vista inmunogénico, las investigaciones se encaminan a obtener vacunas a partir de las PMEs. En 1987, científicos cubanos ensayan por primera vez en el mundo una vacuna eficaz contra el meningococo serogrupo B. Por los buenos resultados obtenidos, la vacuna se licencia en 1988; se administra en forma de campaña entre los años 1989-90 a los grupos entre 3 meses y 19 años de edad y desde 1991 se incorpora al Programa Nacional de Inmunizaciones.

MORAXELLA CATARRHALIS

Moraxella catarrhalis, antigua *Neisseria catarrhalis*, se reporta desde 1886 por Frosch y Kolle, a partir de muestras de esputos obtenidos de pacientes con bronquitis o pleuroneumonía y durante muchos años fue considerada un comensal de la orofaringe. Sin embargo, en 1972, a partir de estudios realizados en pacientes con bronquitis crónica, se pone en evidencia su poder patógeno. En 1977 se detecta la primera cepa productora de β -lactamasa, este hecho conduce a un mayor interés por este microorganismo, especialmente en los aspectos relacionados con su resistencia y la adquisición y diseminación de cepas β -lactamasa positiva. En los niños se comporta como patógeno importante de otitis media y sinusitis; en los adultos, provoca exacerbaciones agudas en pacientes con afección pulmonar obstructiva crónica. Además de estas enfermedades, produce septicemia, endocarditis y meningitis.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Son diplococos gramnegativos arriñonados, inmóviles; no poseen cápsula y presentan pili o fimbrias.

Cultivo y características del crecimiento. Es un microorganismo aerobio, oxidasa y catalasa positiva; no produce ácido a partir de los hidratos de carbono; no es exigente en sus requerimientos nutricionales; se cultiva fácilmente en los medios de cultivo habituales (agar-sangre, agar-chocolate); su temperatura óptima de crecimiento es de 37 °C, aunque también puede crecer a 22 °C y en agar-nutriente. En estos medios produce colonias homogéneas, de contornos bien definidos, color blanco cremoso, no pigmentadas, no hemolíticas y entre 0,5 y 1 mm de diámetro. No crece en los medios selectivos que se emplean en el aislamiento de algunas neisserias.

Su diagnóstico diferencial entre las especies del género *Neisseria* descansa en sus diversos caracteres bioquímicos (Cuadro 24.1), y en el de poseer dos enzimas: Dnasa (desoxirribonucleasa) y lipasa. La Dnasa y lipasa hidrolizan al ADN y tributirina respectivamente. La presencia de estas enzimas se pone de manifiesto en los medios de agar-tributirina y agar-Dnasa.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Posee una pared bacteriana característica de los gramnegativos. Presenta membrana externa, capa de peptidoglicano, espacio periplásmico y membrana citoplásmica. Algunas de estas estructuras bacterianas se involucran en su virulencia, entre estas: PMEs, LOS y pili. Se describen ocho PMEs, denominadas: A, B, C, D, E, F, G y H. Las proteínas E y G están presentes en la mayoría de las especies y junto a LOS desempeñan un papel importante en la producción de anticuerpos protectores; el lípido A (LOS), como en todas las bacterias gramnegativas, provoca el shock endotóxico. Los pili o fimbrias participan en la adherencia, fenómeno que precede la etapa de invasión bacteriana. Se distinguen dos tipos de pili: pili tipo 4 y pili no tipo 4, ambos con diferente grado de participación en el proceso de adherencia.

β -lactamasa

Producen β -lactamasa del tipo penicilinas. Para algunos autores, la β -lactamasa que produce este microorganismo es del tipo BRO. Las enzimas BRO se describen en el año 1978 a partir de cepas de *Moraxella lacunata* y *Moraxella nonliquefaciens*, aisladas del tracto respiratorio humano. Existen dos tipos de enzimas BRO: BRO 1 y BRO 2; el 90 % de las β -lactamasa de *Moraxella catarrhalis* pertenecen al tipo BRO 1 y el 10 % al BRO 2. El grado de resistencia que confiere la enzima BRO 1 es más elevado que la producida por la BRO 2. Una tercera enzima de un punto isoeléctrico diferente se aisló recientemente en algunas cepas de *Moraxella catarrhalis* y se le denominó BRO 3. La producción de β -lactamasa se detecta en 1977 y actualmente el 80 al 90 % de las cepas son β -lactamasa

positiva. Su mecanismo de producción no está totalmente esclarecido; algunos lo asocian a la adquisición de plásmidos transmitidos por conjugación.

PATOGENIA, PATOLOGÍA Y DATOS CLÍNICOS

Moraxella catarrhalis se describe como un comensal inocuo del tracto respiratorio superior del hombre y se detecta como miembro de la flora normal en el 40 al 50 % de escolares sanos; algunos calculan un 12 % de portadores nasales y nasofaríngeos, mientras otros reportan cifras entre el 10 y el 97 %. Las infecciones se presentan con más frecuencia durante el invierno y entre niños desde 0 a 9 años y adultos entre 60 y 80 años.

Durante los primeros años de vida se aísla en otitis media aguda, forma de presentación que puede variar en relación con la edad y la región. Por ejemplo, en Estados Unidos se reporta como el tercer agente causal de esta patología, después de *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*. En los niños provoca también: sinusitis, traqueítis, mastoiditis, conjuntivitis, meningitis y artritis. En el adulto presenta afinidad por las vías broncopulmonares y causa con frecuencia afecciones del tracto respiratorio. Los casos de bronquitis y(o) neumonía se reportan, fundamentalmente, en personas con un déficit respiratorio latente (bronquitis crónica, asma, bronquiectasia), individuos con factores predisponentes a infecciones respiratorias (enfermedades cardiopulmonares y hábito de fumar) y(o) en personas con déficit del sistema inmune. En la actualidad se define como un agente etiológico importante de infecciones nosocomiales y de manera menos habitual se reporta en: sepsis urinaria, uretritis, artritis, endocarditis y septicemia. La septicemia es poco frecuente y su cuadro clínico resulta indistinguible de la meningococemia.

Los casos de neumonía por *Moraxella catarrhalis* generalmente presentan pocos síntomas. Estudios sobre esta enfermedad y su relación con este agente, ponen de manifiesto que existe: aumento en el número de casos en los últimos años; alta mortalidad; elevado índice de desnutrición en las personas que la padecen; y mayor frecuencia de la enfermedad en pacientes de edad avanzada.

Entre la población infantil provoca muchas y variadas infecciones. La septicemia se presenta, principalmente, en casos con leucemia linfoblástica aguda, linfomas, síndrome de inmunodeficiencia adquirida y deficiencias de inmunoglobulina G. Produce también: endocarditis, sinusitis maxilar, traqueítis y neumonía en lactantes prematuros. La conjuntivitis se puede confundir con la provocada por neisserias patógenas y se sugiere que la vía genital materna puede ser el foco de infección, aunque es posible que provenga también de las vías respiratorias de la madre u otras personas en contacto con el pequeño.

El desarrollo de la otitis media aguda no está bien definido. Parece que una infección viral precedente puede ser un importante componente causal. La otitis media es una enfermedad recurrente en algunos pacientes; se plantea que en estos casos pueden existir diferencias antigénicas entre las cepas o que el hospedero, no es capaz de inducir una adecuada respuesta inmunológica a la misma cepa.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO

Muestras. Las muestras están relacionadas con el cuadro clínico del paciente. En otitis media y sinusitis, las muestras de elección serían los líquidos obtenidos por timpanocentesis y aspiración de los senos maxilares, respectivamente. Sin embargo, su obtención requiere de maniobras invasivas y riesgos desfavorables para el enfermo; esto conlleva a imponer un tratamiento empírico en la mayoría de estos pacientes. En enfermos con afecciones broncopulmonares, el esputo constituye la muestra de elección.

Frotis. En la tinción de Gram se observan cocos gramnegativos, agrupados en parejas y semejantes a granos de café. No se observan jamás formas alargadas.

Cultivo. A diferencia de meningococo y gonococo, *Moraxella catarrhalis* no es exigente, se cultiva con facilidad en medios simples. La incubación se realiza en aerobiosis y a 37°C. Sin embargo, una atmósfera con un 5 % de CO₂ favorece su crecimiento. La morfología de las colonias es homogénea, muestran un diámetro entre 0,5 y 1 mm, contornos bien definidos, aspecto blanco cremoso y sin pigmentación.

El diagnóstico diferencial entre las especies del género *Neisseria* descansa en sus diversos caracteres bioquímicos (Cuadro 24.1). Se identifica fácilmente por la presencia de enzimas que hidrolizan el ADN (Dnasa) y las lipasas (tributirina). Reduce los nitratos y nitritos con producción de gas. En todas las cepas aisladas a partir de muestras clínicas debe investigarse su resistencia y detección de β -lactamasa.

TRATAMIENTO

La producción de β -lactamasa se detecta en el 80 al 90 % de las cepas; esta enzima provoca la hidrólisis de la penicilina, cefalosporinas de primera generación y algunas de segunda generación. Las cefalosporinas de tercera generación aún conservan su actividad frente a este microorganismo. El ácido clavulámico inhibe fuertemente a las β -lactamasas y junto a la amoxicilina presenta la mayor actividad bactericida para este microorganismo. Se describe resistencia a la tetraciclina en 1983 y 1988, debido a la adquisición de un gen TetB.

EPIDEMIOLOGÍA

Hasta principios de la década de los años 80, pocos países reportan a *Moraxella catarrhalis* como patógeno en las infecciones broncopulmonares. Como resultado de su homogeneidad antigénica, el análisis de los elementos estructurales de *Moraxella catarrhalis* (PMEs, proteínas, LOS, pili), resultan de poco interés desde el punto de vista epidemiológico. Actualmente, el estudio epidemiológico descansa cada vez más sobre el análisis genómico de las cepas. Los resultados que se alcanzan mediante la aplicación de estos métodos (sondas de ADN, análisis de restricción), constituyen marcadores fiables y proporcionan su identidad genética. Estos estudios permiten implicar a *Moraxella catarrhalis* como agente de infecciones nosocomiales. La posibilidad de aislar este microorganismo en diferentes productos patológicos admite estudiar sus componentes superficiales y proponer un diagnóstico serológico. LOS, o más exactamente, la cadena de oligosacáridos, puede detectarse mediante el empleo de anticuerpos fijados a partículas de látex. Estos anticuerpos reaccionan contra sus LOS. Por otra parte, las PMEs (A, B, C, D, E, F, G) son inmunogénicas y se utilizan también en la identificación serológica. Para el diagnóstico indirecto se emplean métodos inmunoenzimáticos a partir de la proteína P extraída por ultrasonificación.

OTRAS NEISSERIAS

Las especies del género *Neisseria* pueden dividirse en dos grupos. El primero incluye: *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria polysaccharea* y *Neisseria gonorrhoeae* subespecie *kochii*. Las subespecies pertenecientes a este grupo producen colonias translúcidas y no pigmentadas. *Neisseria flavescens* da lugar a colonias pigmentadas y constituye la única excepción. El segundo grupo incluye especies comensales sacarolíticas: *Neisseria subflava*, *Neisseria flava*, *Neisseria perflava*, *Neisseria sicca* y *Neisseria mucosa*. Sus colonias son opacas, aunque algunas cepas de *Neisseria perflava* producen colonias no pigmentadas y transparentes. La mayoría de las otras especies producen colonias pigmentadas de amarillo. Sin embargo, *Neisseria sicca* y *Neisseria mucosa* se describen, habitualmente, como no pigmentadas. Existen especies recién descritas: *Neisseria weaveri* (1993), asociada a mordeduras de perro; *Neisseria iguanea* (1994), aislada de llagas de lagartos; *Neisseria gonorrhoeae* var. *kochii* (1986), bacteria intermedia entre meningococo y gonococo; *Neisseria elongata* ssp. *elongata* (1970); *Neisseria elongata* ssp. *glycolytica* (1976) y *Neisseria elongata* ssp. *nitroreducens* (1990), aisladas de la orofaringe humana y la sangre (endocarditis).

Neisseria flavescens se aísla de un brote de meningitis en Chicago. Sus cepas son pigmentadas, sensibles al colistin y producen polisacárido a partir de sacarosa. *Neisseria mucosa* se describe en 1906; se distingue de *Neisseria perflava* y *Neisseria sicca* por su habilidad para reducir los nitratos. *Neisseria sicca*, *Neisseria subflava*, *Neisseria mucosa* y *Neisseria flavescens*, se aíslan en empiema, neumonía, septicemia, meningitis, endocarditis bacteriana subaguda y pericarditis.

Neisseria elongata, descrita en 1970, presenta morfología cocobacilar y produce filamentos cuando se expone a condiciones subletales de penicilina. Forman parte de la flora normal de la orofaringe y se aísla de casos de faringitis. Aunque tiene forma de bacilo y es catalasa negativa, se considera dentro del género *Neisseria*.

Se describen también en el grupo de neisserias excepcionales: *Neisseria macacae*, *Neisseria denitrificans* y *Neisseria canis*.

Neisseria lactamica se reporta en 1969, es resistente al colistin, crece en medios selectivos y se diferencia de *Neisseria meningitidis* por producir β -galactosidasa. Forma parte de la flora normal de la orofaringe y en raras ocasiones produce meningitis, septicemia e infecciones urogenitales. La presencia de *Neisseria lactamica* en la nasofaringe estimula la formación de anticuerpos bactericidas que protegen contra la EM, puesto que hay reacción cruzada serológica entre ambos microorganismos.

Neisseria cinerea puede confundirse con *Neisseria gonorrhoeae*, forma parte de la flora normal del aparato respiratorio superior y se califica como oportunista. Ocasiona neumonía en casos con síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Sus colonias se parecen a las del gonococo, diferenciándose de esta especie mediante la prueba de sensibilidad a la colistina.

Neisseria gonorrhoeae var. *kochii* se aísla de pacientes con conjuntivitis en Egipto. Muestra características tanto de gonococo como de meningococo. Los aislamientos que se asemejan al gonococo, degradan la glucosa y no producen γ -glutamyl-aminopeptidasa. Sin embargo, no reaccionan con los AcMs específicos contra la P1 y a diferencia del meningococo, requiere de cistina/cisteína en el medio de Neda (medio químicamente definido para identificar auxotipos). Por razones prácticas, estas cepas se identifican como *Neisseria gonorrhoeae* subespecie *kochii*. Se reportan en pacientes con uretritis.

Neisseria polysaccharea se describe, en 1983, por Riou y colaboradores. Se caracteriza por degradar la glucosa y la maltosa, y producir polisacárido a partir de la sacarosa. Se clasifica inicialmente como *Neisseria meningitidis* no agrupable. En medios de cultivo con un 5 % de sacarosa, forma colonias circulares, convexas, brillantes, de 3 a 4 mm de diámetro. Es un coco gramnegativo arriñonado, se agrupa en tétradas y es capaz de crecer en medios selectivos a 37°C y 5 a 10 % de CO₂. No produce hemólisis en agar-sangre y no crece a 22°C. Requiere de cisteína para su crecimiento y reduce los nitritos, pero no los nitratos. Al igual que *Neisseria meningitidis*, produce ácido de la glucosa y maltosa, es catalasa y oxidasa positivas. Tiene ausencia de actividad β -galactosidasa, tributirina, Dnasa, y γ -glutamyl-aminopeptidasa. Es menos sensible que el meningococo a la penicilina y ampicilina. Hasta la fecha sólo se localiza en la nasofaringe.

RESUMEN

GONOCOCO

Nombre científico: *Neisseria gonorrhoeae*, pertenece a la familia *Neisseriaceae* y al género *Neisseria*.

Son diplococos gramnegativos, se agrupan en pares y tienen la apariencia de riñón o grano de café. Presentan una localización intra o extracelular; poseen pili; no presentan esporas, flagelos ni cápsula de polisacárido. Crecen en medios enriquecidos, son aerobios y se incuban de 35 a 37°C en atmósfera húmeda con 5 % de CO₂.

Se localizan en las mucosas y serosas del hombre, única especie para la cual es patógena. Provoca afecciones purulentas en varios tejidos, pero la enfermedad más importante se presenta a nivel del aparato urogenital. En el varón, la uretritis se puede diseminar a estructuras vecinas (epididimitis, orquitis y prostatitis). En la mujer, el espectro clínico es amplio; en un porcentaje considerable de casos la infección es asintomática; en otras, puede extenderse a las glándulas de Bartholino, endometrio, peritoneo y producir EIP. En algunas mujeres conduce a la esterilidad. Fuera de los genitales, las localizaciones más frecuentes son: el recto, la faringe y la conjuntiva.

El diagnóstico se realiza por examen directo y cultivo de: exudados uretrales, endocervicales, faríngeos, conjuntivales y recto. Se deben realizar estudios de resistencia y detección de plásmidos en las cepas aisladas.

Sus factores de patogenicidad son: LOS, IgA proteasas y pili.

Desde el punto de vista epidemiológico, la ETS constituye la expresión clínica más frecuente. Esta se presenta, principalmente, durante la segunda y tercera décadas de la vida, en personas promiscuas, prostitutas y homosexuales.

Por el aumento de cepas PPNG y TRNG, la ceftriaxona constituye el medicamento de elección y como alternativos, ciprofloxacina y espectinomicina. La penicilina se puede utilizar si se demuestra la sensibilidad a este antimicrobiano.

No existen vacunas disponibles. La medida más importante radica en evitar la promiscuidad sexual y eliminar la fuente de infección mediante el diagnóstico y tratamiento precoz. El uso del condón proporciona alguna protección, pero no es segura en todos los individuos.

MENINGOCOCO

Nombre científico: *Neisseria meningitidis*, pertenece a la familia *Neisseriaceae* y al género *Neisseria*.

Son diplococos gramnegativos y se agrupan en pares. Presentan cápsulas, fimbrias, morfología similar a granos de café y localización intracelular. Crecen en aerobiosis, en medios enriquecidos, a la temperatura de 35 a 37°C y atmósfera húmeda con 5 % de CO₂.

Producen infecciones purulentas en varios tejidos, pero la enfermedad más importante es la meningococemia. Esta puede manifestarse de forma endémica o epidémica y provoca altas tasas de morbilidad y mortalidad. La puerta de entrada es la nasofaringe; se adquiere por inhalación del microorganismo a partir de portadores asintomáticos. Después de colonizar la nasofaringe puede invadir el torrente sanguíneo y llegar al SNC. El cuadro clínico se caracteriza por fiebre, cefalea, vómitos, dolores musculares, petequias, rigidez de nuca, hiperreflexia y convulsiones.

El diagnóstico se realiza mediante el estudio del LCR, sangre y petequias e incluye: examen directo, cultivo, técnicas inmunológicas y moleculares. El diagnóstico presuntivo, mediante la observación microscópica y(o) técnicas de diagnóstico rápido, es fundamental y necesario. La EM tiene una evolución rápida y puede conducir a la muerte en pocas horas.

La identificación a partir del cultivo incluye: prueba de oxidasa (positiva), catalasa (positiva), formación de ácido a partir de la glucosa y maltosa, γ -glutamyl-aminopeptidasa (positiva), ONPG (negativo) y reacción de aglutinación positiva frente a los antiseros específicos de grupo.

Los atributos de patogenicidad son: PCs, secreción de IgA proteasa, PMEs, LOS, producción de estructuras vesiculares y presencia de pili.

Se identifican 12 serogrupos (A, B, C, X, Y, Z, 29E, W-135, H, I, K, L), 22 serotipos, más de 12 subtipos y 13 inmunotipos.

La penicilina es el antimicrobiano de elección en el tratamiento de casos clínicos; los alternativos pueden ser el cloranfenicol y las cefalosporinas de tercera generación. Para la quimioprofilaxis se recomienda: rifampicina, espiramicina, minociclina, ciprofloxacina y ceftriaxona. Se realiza la prevención por vacunas de PCs contra los serogrupos A, C, Y, W-125, o a partir de PMEs contra el serogrupo B.

MORAXELLA CATARRHALIS

Nombre científico: *Moraxella catarrhalis*, es miembro de la familia *Neisseriaceae* y del género *Moraxella*.

Es un diplococo gramnegativo arriñonado, aerobio, oxidasa y catalasa positivas; no produce ácido a partir de azúcares, no es exigente en sus requerimientos nutricionales y no crece en medios selectivos.

En los niños produce otitis media aguda y en los adultos provoca complicaciones broncopulmonares. Producen β -lactamasas (80 a 90 %) de las cepas. Sus factores de patogenicidad son: PMEs, LOS y pili.

El diagnóstico se basa en su aislamiento a partir de los productos patológicos. Su diagnóstico diferencial descansa en la producción de Dnasa, lipasas y no elaborar ácido a partir de azúcares.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdillahi H, Poolman JT. *Neisseria meningitidis* group B serosubtyping using monoclonal antibodies in whole-cell ELISA. *Microb Pathog* 1988;4:27-32.
- Achtman M. Global epidemiology of meningococcal disease. *In: Cartwright K. (ed.). Meningococcal Disease. London: John Wiley and Sons, Chichester, England, 1995:159-75.*
- Apicella MA. *Neisseria meningitidis*. *En: Mandrell GL, Bennet JE, Dolin R. (eds.). Enfermedades Infecciosas. Principios y Prácticas. 4ta. ed. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana, 1997:2125-31.*
- Balows A, Hausler WJ, Herrman KL *et al.* Manual of Clinical Microbiology. 5th. ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 1991:222-74.
- Control of Epidemic Meningococcal Disease. WHO Practical Guidelines. 2nd ed. Geneva: World Health Organization, 1998.
- Bourgeois F, Lambert-Zechovsky N, Bingen E. Aspects cliniques, diagnostiques et thérapeutiques des infections à *Moraxella catarrhalis*. *Path Biol* 1993;6:555-601.
- Frasch CE, Zollinger WD, Poolman JT. Serotype antigens of *Neisseria meningitidis* and a proposed scheme for designation of serotypes. *Rev Infect Dis* 1988;7:504-10.
- García J. Infecciones meningocócicas. *En: Farreras Valentín P, Rosman C. (eds.). Medicina Interna. 13ra. ed. Vol. 2. España: Mosby-Doyma Libros, 1995:2425-6.*
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Neisserias. *En: Microbiología médica. 15ta ed. México D.F.: Ed. El Manual Moderno, S.A. de CV 1996:299-306.*
- Koneman EW, Allen SD, Dowell VR *et al.* *Neisseria*. Diagnóstico Microbiológico. 3ra ed. México: Ed. Médica Panamericana, 1998:394-409.
- Llanes R, Sosa J, Martínez I. Detection of penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae* in Cuba, 1995-8. *Sex Trans Inf* 2000;76:58-66.
- _____, Matute I, Gutiérrez M *et al.* Ensayo de un diseño metodológico para la búsqueda de portadores de *Neisseria meningitidis*. *VacciMonitor*, 1999;12:2-9.
- Martínez I, Patton AS, Sotolongo F *et al.* Caracterización de cepas de *Neisseria meningitidis* grupo B. *Acta Científica SVBE* 1994;3:31-4.
- _____. Septicemia a *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*. Reporte de un caso. *Acta Científica SVBE* 1994; 3(1):28-30.
- _____, Patton AS, Valdés E *et al.* Estudio longitudinal de la sensibilidad por concentración mínima inhibitoria en cepas de *Neisseria meningitidis*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología* 1996;16(2): 74-6.
- _____, Sosa J, Valdés E *et al.* Medio de transporte y conservación para cepas de *Neisseria gonorrhoeae*. *Boletín Oficial de la Oficina Cubana de la Propiedad Industrial de la República de Cuba. 1998:147-8 (Patente Cubana número C12N 1/04. CU 25547 A1, 1998).*
- Morello JA, Janda WM, Doern GV. *Neisseria* and *Branhamella*. *In: Balows A, Hausler WJ, Herrman KL et al. Manual of Clinical Microbiology. 5th. ed. Chapter 30. Washington DC: American Society for Microbiology, 1991:258-76.*
- Sierra GV, Campa HC, Valcarcel NM *et al.* Vaccine against group B *Neisseria meningitidis*: protection trial and mass vaccination results in Cuba. *NIPH Ann* 1991;14:195-207.
- Sosa J, Llanes R, Martínez I *et al.* Characterization of *Neisseria gonorrhoeae* strains isolated from a conjunctivitis outbreak. *Proceedings Pathogenic Neisseria. Tenth International Pathogenic Neisseria Conference. Baltimore, Maryland, USA, 1996:49-51.*
- _____, Patton AS, Martínez I *et al.* Estudio de plásmidos en cepas de *Neisseria meningitidis* con sensibilidad disminuida a la penicilina. *Acta Científica de la SVB* 1994;3(2):15-8.
- Sotolongo F, Patton AS, Martínez I *et al.* *Neisseria meningitidis*. Aspectos teóricos y prácticos sobre el diagnóstico, clasificación y valoración de la respuesta inmune. 3ra ed. La Habana: Ediciones Finlay, 1995:11-47.



Bacilos y cocos gramnegativos anaerobios

Alicia Ma. Martínez Izquierdo
Olga A. Ginebra González

INTRODUCCIÓN

Las bacterias anaerobias cobran importancia médica por las infecciones que causan, a menudo estas son polimicrobianas, es decir, la bacteria anaerobia se encuentra en infecciones mixtas con otros anaerobios, anaerobios facultativos y aerobios. Estas se hallan en el cuerpo humano formando parte de la flora normal y causan infección cuando llegan a zonas estériles del cuerpo o cuando existen factores predisponentes que alteran el potencial de óxido-reducción en los tejidos.

En este capítulo se estudiarán las infecciones por bacilos y cocos gramnegativos, pues los clostridios, espiroquetas anaerobias y *Campylobacter* sp. anaerobios se explican en otros capítulos.

BACILOS GRAMNEGATIVOS ANAEROBIOS

Los bacilos gramnegativos anaerobios son parte de la flora normal de la boca, tracto respiratorio superior, tracto intestinal y urogenital de los humanos y de los animales inferiores. Sus miembros incluyen los siguientes géneros: *Anaerovibrio*, *Bacteroides*, *Biophila*, *Butyrivibrio*, *Centipeda*, *Desulfomonas*, *Desulfovibrio*, *Fibrobacter*, *Fusobacterium*, *Leptotrichia*, *Megamonas*, *Mitsuokella*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Rikenella*, *Ruminobacter*, *Sebaldella*, *Selenomonas*, *Succinimonas*, *Succinivibrio*, *Tissierella* y *Wolinella*.

De los géneros anteriores, sólo cuatro necesitan ser considerados por su importancia en especímenes clínicos, ellos son: *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Prevotella* y *Porphyromonas*.

Los géneros anteriores son identificados presuntivamente basándose en la morfología celular y colonial, producción de pigmentos, fluorescencia bajo luz ultravioleta, susceptibilidad a los discos de antibióticos (vancomicina, colistina y kanamicina) y características bioquímicas; mientras que el diagnóstico confirmativo se realiza mediante cromatografía en gas-líquido.

BACTEROIDES

La taxonomía de los bacilos gramnegativos anaerobios ha tenido grandes cambios en los últimos años, tendencia que continuará. El nuevo género *Bacteroides* incluye miembros del grupo *B. fragilis*, *B. splanchnicus* y al grupo *B. ureolyticus*.

Este género se incluye en la familia *Bacteroidaceae*. El grupo *B. fragilis* comprende las siguientes especies: *B. distasonis*, *B. caccae*, *B. eggerthii*, *B. fragilis*, *B. merdae*, *B. vulgatus*, *B. ovatus*, *B. stercoris*, *B. thetaiotaomicron*, *B. uniformis*; mientras en el grupo *B. ureolyticus* con taxonomía incierta se incluyen como especies: *B. ureolyticus* y *B. gracilis*.

Las especies de *Bacteroides* sensibles a la bilis y moderadamente sacarolíticas han sido reclasificadas en el nuevo género *Prevotella*, y especies de *Bacteroides* asacarolíticas son ahora miembros del género *Porphyromonas*.

Otras especies de *Bacteroides* han sido reclasificadas en nuevos géneros, y con la excepción de *Tissierella praecuta* (antes *B. praecutus*), no son de importancia clínica.

El grupo *B. ureolyticus* ha sufrido múltiples cambios en los últimos años; estudios recientes por Han y colaboradores reportan que *B. ureolyticus* y *B. gracilis*, miembros de dicho grupo, así como *Wolinella recta* y *Wolinella curva* son similares a los verdaderos *Campylobacter*. Debido a la taxonomía incierta del grupo *B. ureolyticus*, se sigue considerando como una especie de *Bacteroides*.

Las especies de *Bacteroides* son el grupo más importante de anaerobios que causan infecciones humanas; son habitantes normales del intestino y otros sitios del cuerpo. Las heces normales contienen 10^{11} microorganismos de *B. fragilis* por gramo. *B. fragilis* es la especie más importante de todas las bacterias anaerobias, no sólo por su frecuencia en infecciones clínicas, sino por su resistencia creciente a los agentes antimicrobianos.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Son bacilos gramnegativos irregularmente teñidos, delgados, pleomórficos; pueden observarse formas cocobacilares; son anaerobios obligados, no esporulados, inmóviles o móviles mediante flagelos peritricos.

Cultivo. Crecen en anaerobiosis, a temperatura de 35 a 37 °C y a pH 7; crecen en medios con bilis al 20 % y en agar-sangre con kanamicina (1 mg/mL), vancomicina (5 µg/mL) o colistina (10 µg/mL); crecen bien en Brucella base agar con sangre de carnero suplementado con hemina y vitamina K₁ incubados durante 2 ó 3 días.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA Y ENZIMAS EXTRACELULARES

Los bacteroides tienen una composición lipídica inusual, alrededor de la mitad de sus lípidos extraíbles son esfingolípidos y ceramidas. El LPS carece de ácido 3-keto-2-desoxioctónico y de la heptosa que normalmente se encuentra en el LPS de otras bacterias, y es mucho menos tóxico.

A diferencia de otras especies de *Bacteroides*, *B. fragilis* posee cápsula polisacáridica, compuesta por L-fucosa, D-galactosa, DL-quinovasamina y D-glucosamina. La misma es un importante factor de virulencia.

Los bacteroides producen neuroamidasa, hialuronidasa, desoxirribonucleasa, fibrinolisisina y fosfatasa. *B. fragilis* sintetiza una heparinasa que puede contribuir a la coagulación intravascular.

PATOGENIA

La infección por anaerobios se produce cuando existe un defecto en las defensas del hospedero, a causa de una infección previa por destrucción hística o por una restricción del aporte sanguíneo que conduce a una reducción total en el potencial de óxido-reducción,

junto a la inoculación oportunista de la flora normal cercana. Los factores anteriores, unido a la tolerancia de *Bacteroides* al oxígeno durante grandes períodos y la presencia de factores de virulencia como la cápsula polisacáridica con actividad antifagocítica y anticomplementaria, favorecen el establecimiento y multiplicación de estos microorganismos en los tejidos.

En la infección humana, la fuente de la mayoría de las bacterias anaerobias es la propia flora normal del paciente, que se disemina después de traspasar la barrera mucocutánea de su hábitat normal en la orofaringe, el tracto gastrointestinal o la región genital; es por ello que las infecciones por anaerobios son polimicrobianas y de origen endógeno.

Los bacilos gramnegativos anaerobios residentes en las vías aéreas pueden invadir estructuras normales estériles y ocasionar infecciones profundas de cabeza y cuello. El 85 % de los abscesos cerebrales albergan anaerobios, que provienen de una infección previa de los senos paranasales y el oído medio. Un 90 % se asocia a neumonía por aspiración y absceso del pulmón.

Las sepsis intraabdominales que ocasionan, tales como peritonitis y abscesos, están precedidas por una perforación intestinal, encontrándose *B. fragilis* en un 80 %.

Estos organismos causan infección de la piel y del tejido celular subcutáneo seguido de traumatismo, cirugía o isquemia. *B. fragilis* infecta de forma sistemática las úlceras de decúbito y las úlceras de los pies de los diabéticos.

DATOS CLÍNICOS

Los signos y síntomas que sugieren posible infección por anaerobios son:

1. Exudado fétido debido a productos de ácidos grasos de cadenas cortas del metabolismo anaerobio.
2. Infección en las proximidades de una superficie mucosa.
3. Gas en los tejidos por producción de CO_2 e H_2 .
4. Necrosis hística severa con formación de abscesos y gangrena.

Los bacteroides producen lesiones abscedadas a nivel del Sistema Nervioso Central (SNC), pulmón, cabeza, cuello, abdomen, genitales femeninos, piel y tejido celular subcutáneo.

SNC: abscesos cerebrales y empiema subdural.

Pulmón: neumonía por aspiración, neumonía necrosante y abscesos del pulmón.

Cabeza y cuello: sinusitis crónica, otitis media crónica y abscesos periodontales.

Abdomen: abscesos hepáticos, peritonitis y colagenitis.

Genitales femeninos: abscesos tuboováricos, absceso vulvovaginal, salpingitis, pelviperitonitis, aborto séptico y endometritis.

Piel y tejido celular subcutáneo: infectan úlceras de decúbito y de los pies de los diabéticos.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO

Muestras. La toma de muestra para cultivo de anaerobios debe tener en cuenta el efecto letal del oxígeno atmosférico, por lo que a este fin se han ideado contenedores especiales de transporte con atmósfera prerreducida. Las muestras para cultivo deben ser el pus de absceso y lesiones, la sangre y tejidos.

Frotis. Los frotis con tinción de Gram muestran bacilos gramnegativos delgados con extremos redondeados, pleomórficos y formas cocoides, teñidos de forma irregular. Teniendo en cuenta que los organismos anaerobios infectantes tienen su origen en la flora normal de las superficies mucocutáneas, es imposible distinguir al patógeno del comensal mediante tinción de Gram. Puede emplearse inmunofluorescencia directa a la muestra para la detección rápida de los miembros del grupo *B. fragilis*.

Cultivo. Los cultivos deben incubarse de 35 a 37 °C, a pH 7, y bajo condiciones de anaerobiosis de 2 a 5 días. Los medios a emplear pueden ser: no selectivos y selectivos.

Medios no selectivos: agar-sangre para anaerobios, agar Brucella, infusión cerebro-cora-zón suplementada con extracto de levadura, agar Columbia, agar Schaedler y agar-soya tripticasa; todos los medios suplementados con vitamina K₁ y hemina.

Medios selectivos: agar-sangre CDC para anaerobios, agar-sangre con vancomicina y kanamicina, bacteroides bilis esculina agar (BBE), tioglicolato con vitamina K₁ (0,1 µg/mL) y hemina (5 µg/mL), agar-sangre feniletíl alcohol.

Las muestras transportadas en medios adecuados para anaerobiosis deben ser inoculadas de forma duplicada en los medios seleccionados e incubadas tanto en anaerobiosis como en aerobiosis. Las muestras sembradas en anaerobiosis no deben ser examinadas antes de las 48 horas.

Las colonias son de 2 a 3 mm de diámetro, circulares, de bordes enteros, convexas, lisas, translúcidas a opacas de forma general; la mayoría de las especies del grupo *B. fragilis* se observan ennegrecidas en agar BBE por la hidrólisis de la esculina, excepto *B. vulgatus*. El grado de hemólisis varía con la especie:

B. fragilis: algunas cepas son β-hemolíticas.

B. distasonis: algunas cepas son α-hemolíticas.

B. ovatus, B. thetaiotaomicron, B. vulgatus: son no hemolíticas.

Pruebas fisiológicas. Las especies que integran el género *Bacteroides* fermentan la glucosa, sacarosa y maltosa; son resistentes a la bilis al 20 %; son indol negativo en su mayoría. Las especies del grupo *B. ureolyticus* son resistentes a la vancomicina y susceptibles a la kanamicina y colistina, mientras que el grupo *B. fragilis* es resistente a los tres antibióticos señalados.

Mediante cromatografía en gas-líquido se obtienen los productos finales del metabolismo de la glucosa tales como: el ácido propiónico, ácido succínico y ácido acético.

Sistemas comerciales de identificación bioquímica

1. Minitek System (Becton Dickinson Microbiology Systems).
2. API 20-A (BioMérieux-Vitek).
3. An-Ident System (BioMérieux-Vitex).
4. RapID-ANA II System.
5. MicroScan.
6. Vitek ANI Card.
7. ATB 32-A System.

TRATAMIENTO

El tratamiento de las infecciones por anaerobios requiere el drenaje quirúrgico y el uso de antibióticos adecuados.

Los bacteroides son resistentes a tetraciclina, penicilina y cefalosporinas; las drogas de elección son clindamicina y metronidazol, aunque se han reportado algunas cepas resistentes. Los medicamentos alternativos son: cefoxitina, cefotétano, mezlocilina, piperacilina y moxalactam.

FUSOBACTERIUM

El género se incluye en la familia *Bacteroidaceae* y comprende las siguientes especies: *F. necrophorum*, *F. nucleatum*, *F. mortiferum*, *F. naviforme*, *F. pseudonecrophorum*, *F. russii*, *F. ulcerans*, *F. varium*, *F. gonidiaformans*. De ellos, *F. necrophorum* y *F. nucleatum* son los más frecuentemente recobrados en infecciones clínicas humanas.

Los miembros de este género son parte de la flora normal de la cavidad oral, tracto gastrointestinal y genital.

En la placa dental pueden representar hasta el 4 % de todos los anaerobios aislados. Son componentes menores de la flora del colon y, en ocasiones, son una parte importante de la flora vaginal.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Son bacilos gramnegativos pleomórficos, que se tiñen de forma irregular; pueden encontrarse formas cocoides y filamentosas. Son anaerobios obligados, no esporulados; algunas cepas son móviles por la presencia de flagelos peritricos, aunque la mayoría son inmóviles y no capsulados.

Cultivo. Crecen en anaerobiosis a 35 y 36 °C, a pH 7, en medio de agar-sangre con vancomicina (5 µg/mL). Son catalasa negativa; no reducen NO₃ a NO₂; no producen ureasas.

Pared celular. Poseen LPS, con algunos de los componentes típicos presentes en las bacterias entéricas. No tienen cápsula.

DATOS CLÍNICOS

Los microorganismos del género *Fusobacterium* producen infecciones polimicrobianas de origen endógeno que aparecen cuando en el hospedero existen factores predisponentes como: traumas, instrumentación, manipulación, infecciones orales, disminución del potencial de O₂ y necrosis del tejido.

Las fusobacterias pueden originar amigdalitis crónica; estos microorganismos, conjuntamente con *Porphyromonas asaccharolytica* y cocos grampositivos anaerobios, pueden ocasionar la angina de Vincent's y faringitis, cuadro que se caracteriza por la presencia de membranas grisáceas que producen aliento con olor fétido.

Fusobacterium necrophorum puede conducir a la enfermedad de Lemierre's o septicemia posanginal, caracterizada por sepsis y extensión metastásica de la infección a la mayoría de los órganos. La enfermedad de Lemierre's era muy frecuente antes de la era de los antibióticos; en la actualidad es poco común.

Fusobacterium nucleatum está asociado a infecciones pleuropulmonares como la neumonía aspirativa, el absceso del pulmón y el empiema. Este microorganismo, conjuntamente con *Bacteroides ureolyticus*, son los agentes anaerobios más frecuentes en mujeres con infección del líquido amniótico y membranas intactas.

Las fusobacterias asociadas a espiroquetas anaerobias producen una gingivitis ulcerativa necrosante aguda (GUNA), un tipo de gingivitis poco común que se observa en adultos jóvenes sometidos al estrés. Las especies de *Fusobacterium* pueden causar sinusitis aguda precedida de una infección dental, así como sinusitis crónica. La infección a nivel de piel y tejidos blandos se desarrolla cuando el tejido está traumatizado o desvitalizado por heridas traumáticas, o por isquemia de las extremidades asociadas con arterioesclerosis o diabetes mellitus.

Las fusobacterias pueden ocasionar infecciones polimicrobianas intraabdominales tales como abscesos de hígado y bazo. Estos microorganismos a veces producen abscesos cerebrales y meningitis; en estudios recientes se ha reportado un incremento de su incidencia en endocarditis.

En ocasiones, las especies de *Fusobacterium* pueden causar infecciones como osteomielitis; se han hallado en cultivos puros y de forma unimicrobiana.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO

Muestras. Pus de heridas, lesiones y abscesos, así como muestras de tejidos y sangre, tomados bajo condiciones de anaerobiosis en contenedores adecuados para su recolección y transporte.

Frotis. Los frotis coloreados con tinción de Gram muestran bacilos pleomórficos, formas filamentosas y cuerpos redondos coloreados de forma irregular, gramnegativos.

Cultivo. Los cultivos deben incubarse de 35 a 36 °C, a pH 7, bajo condiciones de anaerobiosis durante 2 a 5 días en agar-sangre para anaerobios con vancomicina; pueden emplearse la infusión cerebro-corazón suplementada con extracto de levadura, agar Brucella y agar Columbia, suplementados con vitamina K₁ y hemina.

Las colonias se describen circulares con bordes enteros, difusos o altamente festoneados, convexas, translúcidas, lisas y no hemolíticas.

Pruebas fisiológicas. Son en su mayoría indol positivo con excepción de *F. mortiferum*, *F. russii* y *F. ulcerans*; no crecen en bilis al 20 % excepto *F. mortiferum*, *F. ulcerans* y *F. varium*; no hidrolizan la esculina salvo *F. mortiferum* que también fermenta la lactosa y la fructuosa; el resto de las especies resultan negativas. Son resistentes a la vancomicina (5 μ g/mL) y susceptibles a la kanamicina y colistina.

Mediante cromatografía en gas-líquido se pueden obtener los ácidos grasos producidos durante el metabolismo, detectándose gran cantidad de ácido butírico.

TRATAMIENTO

Las fusobacterias son sensibles a la penicilina G, que se utilizan como droga de elección, y como drogas alternativas secundarias se emplean la clindamicina y el cloranfenicol.

PREVOTELLA

El género *Prevotella* incluye especies con nombres nuevos y otras que se clasificaron previamente como especies de *Bacteroides* (por ejemplo, *P. melaninogenica*, la cual se llamaba con anterioridad *B. melaninogenicus*).

El género *Prevotella* agrupa las especies en dependencia de la producción de pigmentos o no y sensibilidad a la bilis.

Las prevotellas pigmentadas y sensibles a la bilis incluyen a: *P. intermedia*, *P. corporis*, *P. melaninogenica*, *P. denticola* y *P. loescheii*.

Las prevotellas no pigmentadas y sensibles a la bilis comprenden a las siguientes especies: *P. oralis*, *P. buccae*, *P. heparinolytica*, *P. zoogloformans*, *P. veroralis*, *P. oris*, *P. oulora*, *P. bivia*, *P. disiens*, *P. buccalis* y *P. oulorum*.

De las especies anteriores, las aisladas con mayor frecuencia son: *P. melaninogenica*, *P. bivia* y *P. disiens*; la primera se halla asociada a infecciones de las vías respiratorias superiores y las otras dos, en las vías genitales femeninas.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Son bacilos gramnegativos delgados, en pares y ocasionalmente aparecen cadenas cortas y formas cocobacilares, son no esporulados y no móviles.

Cultivo. Crecen de 35 a 36°C, a pH 7, en condiciones de anaerobiosis en agar-sangre con vancomicina y kanamicina. Crecen en bilis al 20 %.

DATOS CLÍNICOS

Las infecciones por *Prevotella* son también de tipo polimicrobiano, asociándose con anaerobios que forman parte de la flora normal, en particular *Peptostreptococcus*, bacilos anaerobios grampositivos, y especies de *Fusobacterium*; así como anaerobios facultativos grampositivos y gramnegativos que son parte de la flora normal.

Pueden ocasionar amigdalitis aguda y crónica, sinusitis crónica y abscesos encefálicos. *P. melaninogenica* se asocia con infecciones de las vías respiratorias inferiores como: el absceso del pulmón, el empiema y la neumonía aspirativa.

Prevotella bivia y *P. disiens* se presentan en las vías genitales femeninas ocasionando enfermedad inflamatoria pélvica, abscesos tuboováricos, endometritis y vaginosis.

En la piel infecta tejidos traumatizados y desvitalizados por heridas o isquemia de las extremidades, sobre todo en pacientes diabéticos.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO

Muestras. Pus de abscesos y lesiones tomados para cultivo en anaerobiosis en contenedores adecuados y con las medidas necesarias.

Frotis. Teñidos con tinción de Gram se observan como bacilos y cocobacilos coloreados de forma irregular. *P. disiens* pueden mostrar bacilos en pares y cadenas cortas.

Cultivo. Crecen de 35 a 36 °C, a pH 7, en condiciones de anaerobiosis y aerobiosis en agar-sangre con vancomicina y kanamicina; se observan colonias circulares de bordes enteros, convexas, no hemolíticas, con un centro oscuro y bordes de color gris a carmelita claro; con la incubación prolongada de 1 a 2 días se intensifica la producción de pigmentos. Esta producción de pigmentos en agar-sangre depende del tipo de sangre que se utilice, recomendándose para estos fines la sangre de conejo. Las colonias fluorescen bajo luz ultravioleta rosado, naranja o amarillo-verdoso. La fluorescencia puede no ser detectada después de la producción de pigmentos. Las especies no pigmentadas son resistentes a la vancomicina.

Pruebas fisiológicas. Las especies de *Prevotella* pigmentadas (*P. intermedia*, *P. corporis*, *P. melaninogenica*, *P. denticola*, *P. loescheii*) son catalasa negativa, todas fermentan la glucosa y la maltosa; la lactosa no es fermentada por *P. intermedia* y *P. corporis*, y la celobiosa sólo es fermentada por *P. loescheii*. Son, en su mayoría, indol negativo, con excepción de *P. intermedia*. Las especies pigmentadas son resistentes a la vancomicina y kanamicina, y variables a la colistina.

Las especies de *Prevotella* no pigmentadas y sensibles a la bilis se agrupan realizando determinadas pruebas fisiológicas (ver Cuadro 25.1). Mediante cromatografía en gas-líquido se obtienen los productos del metabolismo de la glucosa como: el ácido succínico, isovalínico, isobutírico y fórmico.

Cuadro 25.1. Características de las especies de *Prevotella* no pigmentadas y sensibles a la bilis

Subgrupo y especies	Glucosa	Sacarosa	Lactosa	Arabinosa	Xilosa	Salicina	Celobiosa	Hidrólisis de la esculina	Indol
Especies sacarolíticas que fermentan pentosa									
<i>P. oris</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>P. buccae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>P. heparinolytica</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. zooglyphiformans</i>	+	+	+	V	V	V	+	+	-
Especies sacarolíticas que no fermentan pentosa									
<i>P. oralis</i>	+	+	+	-	-	+	+	+	-
<i>P. buccalis</i>	+	+	+	-	-	-	+	+	-
<i>P. veroralis</i>	+	+	+	-	-	-	+	+	-
<i>P. oulora</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	-
Especies sacarolíticas y proteolíticas									
<i>P. bivia</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>P. disiens</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Tomado de: Jousimies-Somer HR, Finegold SM. In: Balows A et al. (eds.). Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. 1991:548.

TRATAMIENTO

El tratamiento de las infecciones mixtas por anaerobios es por drenaje quirúrgico más terapéutica antimicrobiana. Muchas cepas de *Prevotella* producen β-lactamasa (*P. bivia* y *P. disiens*). Los agentes más efectivos en el tratamiento de estas infecciones son la clindamicina y el metronidazol, empleándose medicamentos alternativos como cefoxitina, mezlocilina y piperacilina.

PORPHYROMONAS

Este género incluye especies con nombres nuevos y especies que se incluyeron en el género *Bacteroides*. Los miembros de este género son parte de la flora normal de la cavidad oral y de otros sitios anatómicos. Producen colonias pigmentadas y son asacarolíticas. Este grupo comprende las siguientes especies: *P. asaccharolytica*, *P. endodontalis* y *P. gingivalis*.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Son cocobacilos gramnegativos pleomórficos, teñidos de forma irregular, anaerobios, no esporulados y no móviles.

Cultivo. Se cultivan de 35 a 37 °C, a pH 7, bajo condiciones de anaerobiosis en agar-sangre para anaerobios preferiblemente con sangre de conejo para favorecer la producción de pigmentos. Las colonias son similares al género *Prevotella*.

DATOS CLÍNICOS

Pueden causar infecciones gingivales y periapicales de los dientes, y más comúnmente infecciones mamarias, axilares, perianales, así como en genitales masculinos.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO

Muestras. Pus de abscesos y lesiones tomadas con medidas adecuadas para el cultivo de anaerobios, envasadas en contenedores propios para estos fines.

Frotis. Las muestras coloreadas con tinción de Gram muestran cocobacilos gramnegativos pleomórficos, irregularmente teñidos.

Cultivo. Las muestras deben ser cultivadas en anaerobiosis y aerobiosis con medios adecuados a pH 7 y temperatura entre 35 y 37 °C, preferiblemente en agar con sangre de conejo, kanamicina y colistina, y en agar Brucella suplementado con vitamina K₁ y hemina. Las colonias son circulares, de bordes enteros, convexas, no hemolíticas, con pigmentos que van del gris al carmelita oscuro con la incubación prolongada de 2 a 21 días y fluorescen de color rojo ladrillo bajo luz ultravioleta.

Pruebas fisiológicas. Las especies de *Porphyromonas* son indol negativo, lipasa negativa, catalasa negativa; no fermentan los carbohidratos como la lactosa, glucosa, maltosa y celobiosa, por lo que se conocen como especies asacarolíticas. Son resistentes a la kanamicina y colistina, y susceptibles a la vancomicina.

Mediante cromatografía en gas-líquido se obtienen los ácidos grasos producidos durante el metabolismo de la glucosa, como son: el ácido acético, propiónico, isobutírico, isovalínico, succínico y fenilacético.

TRATAMIENTO

Se emplea tratamiento quirúrgico y medicamentoso, utilizándose penicilina G, metronidazol y clindamicina.

COCOS GRAMNEGATIVOS ANAEROBIOS

Los cocos gramnegativos anaerobios se incluyen en la familia *Veillonellaceae*, la cual está conformada por tres géneros: *Veillonella*, *Megasphaera* y *Acidaminococcus*. Estos microorganismos se han reportado muy raramente como patógenos humanos significativos. Son parte de la flora humana normal, especialmente en la boca, aparato respiratorio e intestino grueso.

Los miembros de la familia *Veillonellaceae* se asocian con infecciones de la cavidad oral, la cabeza, el cuello, las heridas por picaduras, así como con infecciones de tejidos blandos.

El género *Veillonella* incluye varias especies: *V. parvula*, *V. atypica*, *V. dispar*, *V. caviae*, *V. rodentium*, *V. ratti* y *V. cricetti*.

Veillonella parvula es la más frecuente en muestras clínicas, el resto de las especies fueron designadas a partir de 1982.

El género *Megasphaera* incluye una sola especie: *M. elsdenii*, y el género *Acidaminococcus* también está constituido por una sola especie: *A. fermentans*.

CARACTERÍSTICAS GENERALES

Son cocos gramnegativos anaerobios, de crecimiento lento, que a veces requieren prolongar la incubación de sus exámenes bioquímicos; las reacciones bioquímicas no deben ser leídas hasta que no se observe un crecimiento suficiente.

Existen tests bioquímicos para la identificación presuntiva de los cocos anaerobios basados en su morfología colonial y celular, fluorescencia bajo luz ultravioleta, susceptibilidad a los discos de antibióticos y la determinación de las características bioquímicas; pero la identificación confirmativa o definitiva requiere de la fermentación de carbohidratos y de la cromatografía en gas-líquido (GLC), puesto que durante el metabolismo de células anaerobias se producen: alcoholes, ácidos grasos y ácidos orgánicos no volátiles que son detectados por GLC y que permiten la identificación presuntiva y definitiva de estos microorganismos.

El uso de GLC es esencial para diferenciar entre los tres géneros de cocos gramnegativos, observándose la típica producción de ácidos grasos; también se puede diferenciar sobre la base de su talla, y aunque esto no es totalmente fiel, puede ayudar.

Las colonias de *Veillonella* son muy pequeñas, blanco-grisáceas, translúcidas y reducen nitratos a nitritos ($\text{NO}_3 - \text{NO}_2$). Las de *Acidaminococcus* son de moderada talla; y las de *Megasphaera* son muy grandes (las células son mayores que $1,5 \mu\text{m}$). Son gramnegativas de acuerdo con la composición de la pared celular, aunque pueden verse grampositivas.

Las colonias de *Veillonella* semejan a los pigmentos de *Porphyromonas* y *Prevotella* sp., y pueden fluorescer rojo bajo los rayos ultravioletas.

Veillonella sp. son no fermentativos y producen ácido propiónico.

Acidaminococcus fermentans no fermentan los carbohidratos y producen ácido acético y ácido butírico.

Megasphaera elsdenii fermentan algunos carbohidratos (glucosa y maltosa) y producen ácido caprónico.

VEILLONELLA

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Son cocos gramnegativos agrupados en pares, en masas o cadenas, aunque pueden observarse células simples, no móviles, no esporulados, no capsulados y no flagelados, con un diámetro de $0,3$ a $0,5 \mu\text{m}$ y un largo de $2,5 \mu\text{m}$.

Cultivo. Se cultivan en agar-sangre con vancomicina en condiciones de anaerobiosis, con un pH de $6,5$ a 8 , a temperatura entre 30 y 37°C ; crecen pobremente a 40°C y de forma lenta a 24°C . Las colonias tienen un diámetro de 1 a 3 mm , son lisas, cristalinas, opacas y de color blanco-grisáceo.

Pruebas fisiológicas. No fermentan los carbohidratos (glucosa, lactosa, maltosa, sacarosa) y producen ácido propiónico.

Pruebas serológicas. Están basadas en la endotoxina que permiten especificidad serológica.

TRATAMIENTO

Son sensibles al cloranfenicol, imipenem, metronidazol, clindamicina, cefoxitina, ticarcilina, penicilina G, kanamicina y colistina.

ACIDAMINOCOCCUS

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Son cocos gramnegativos, de forma oval o de riñón, agrupados en parejas, no móviles, no flagelados, no esporulados; poseen un lipopolisacárido a nivel de la pared celular que constituye su endotoxina.

Cultivo. Necesitan requerimientos nutricionales múltiples, entre los que se encuentran: triptona, ácido glutámico, valina, arginina, cisteína, tirosina e histidina. Crecen en condiciones de anaerobiosis, en agar- sangre con vancomicina (7,5 µm/mL), con un pH entre 6,2 y 7,5, y un rango de temperatura entre 30 y 37 °C.

Pruebas fisiológicas. No fermentan los carbohidratos y producen ácido acético y ácido butírico. No licúan la gelatina, no producen ácido sulfhídrico, ni indol; son catalasa y oxidasa negativas, y no reducen los nitratos a nitritos.

TRATAMIENTO

Son sensible a la colistina y a la kanamicina.

MEGASPHAERA

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Son cocos gramnegativos relativamente grandes, con un diámetro de 2 µm o más, agrupados en pares, rara vez agrupados en cadena; son no móviles, no esporulados y anaerobios obligados.

Cultivo. Crecen en agar-sangre con vancomicina, en condiciones de anaerobiosis, a pH 6,2 y 7,5, y temperatura entre 30 y 37 °C.

Pruebas fisiológicas. Fermentan la glucosa y la maltosa, y producen múltiples ácidos grasos, incluyendo el ácido caproico.

TRATAMIENTO

Son sensibles a la colistina y a la kanamicina.

Las características generales y la identificación de los cocos gramnegativos anaerobios se resumen en el Cuadro 25.2

Cuadro 25.2. Identificación de cocos gramnegativos anaerobios

	Utilización de piruvato	Fluorescencia luz ultravioleta	Coloración Gram	Catalasa	Indol	Nitrito	Esculina	Gelatina	Fermentación				Ácidos grasos en caldo glucosa-peptona, extracto de levadura	Colonias
									Glucosa	Lactosa	Maltosa	Sacarosa		
<i>Veillonella parvula</i>	+	Roja	-	V	-	+	-	-	-	-	-	-	A, P, S*	Muy pequeñas
<i>Acidaminococcus fermentans</i>	-	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A, B, P*, L*	Moderada talla
<i>Megasphaera elsdenii</i>	+	(-)	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	A, IB, B, IV, V, C, L, F*	Muy grandes

+: 90 % otras de positividad.
 -: 90 % otras de negatividad.
 V : variables.

*= No produce ácido uniformemente.
 A= ácido acético.
 P= ácido propiónico.
 S= ácido succínico.
 B= ácido butírico.
 L= ácido acético.
 IB: ácido isobutírico.
 IV: ácido isovalérico.
 V: ácido valérico.
 C: ácido caproico.
 F: ácido fórmico.

Tomado de: Howard BJ, Keisser JF. Anaerobic Bacteria. Clinical and Pathogenic Microbiology. 2nd ed. 1994:411.

RESUMEN

Los bacilos gramnegativos anaerobios incluyen 22 géneros, de ellos cuatro son importantes en la práctica médica; estos son: *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Prevotella* y *Porphyromonas*. Los mismos forman parte de la flora normal de la mucosa oral, tracto respiratorio superior, tracto intestinal y urogenital del hombre y animales superiores, por lo que causan infecciones polimicrobianas de origen endógeno.

Los cocos gramnegativos anaerobios se incluyen en la familia *Veillonellaceae*, que consta de tres géneros: *Veillonella*, *Megasphaera* y *Acidaminococcus*. Estos microorganismos forman parte de la microflora de las cavidades del cuerpo de los animales y el hombre, especialmente a nivel de la boca, el aparato respiratorio superior y el intestino grueso. Se reportan muy raramente como patógenos humanos significativos. *V. parvula* es la especie aislada con más frecuencia en este grupo de microorganismos, los cuales son resistentes a la vancomicina y sensibles a la kanamicina y colistina.

El diagnóstico presuntivo de estos microorganismos se basa en la morfología colonial y celular, producción de pigmentos, fluorescencia bajo luz ultravioleta, susceptibilidad a los discos de antibióticos (vancomicina, kanamicina y colistina) y características bioquímicas; mientras que el diagnóstico de laboratorio se realiza mediante cromatografía en gas-líquido.

El tratamiento de estas infecciones por bacilos gramnegativos es quirúrgico, a través del drenaje de los abscesos y con drogas antimicrobianas; se emplea la penicilina G en aquellas infecciones en las que no participen especies de *Bacteroides*, *Prevotella* y *Porphyromonas* productoras de β -lactamasa. Las drogas de elección son la clindamicina y el metronidazol.

BIBLIOGRAFÍA

- Droston LN, Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 15ta ed. en español. Cap. 22. México D.F.: Ed. El Manual Moderno, 1996:307-13.
- Falkon S. *Bacteroides* y *Fusobacterium*. In: Davis BD, Bulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS (eds.). Tratado de Microbiología Clínica. 4ta ed. Barcelona: Masson SA, 1996:567-70.
- Han YH, Smibert RM, Krieg NR. *Wolinella recta*, *Wolinella curva*, *Bacteroides ureolyticus* and *Bacteroides gracilis* are microaerophiles, not anaerobes. Int J Syst Bacteriol 1991;41:218.
- Holth JG, Bryant MP, Krieg NR, Lapage SP *et al.* (eds.). Gram-Negative anaerobic cocci. The Shorter Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th ed. Baltimore: Md, Waverly Press, Inc, 1977:170-2.
- Howard BJ, Keiser JR. Anaerobic Bacteria. In: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF *et al.* (eds.). Clinical and Pathogenic Microbiology. 2nd ed. St Louis: Mosby-Year Book, Inc, 1994:383-423.
- Jousinries Somer HR, Finegold SM. Anaerobic Gram-Negative Bacilli and Cocci. In: Balows A, Hausler W, Herrman K *et al.* (eds.). Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. Washington: American Society for Microbiology, 1991:538-53.
- Koneman EW, Allen SD, Dowell VR (Jr), Janda W *et al.* (eds.). The Anaerobic Bacteria. In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 3rd ed. Philadelphia: JB Lippincott Company, 1998:393-471.

Capítulo

26

Enterobacterias

Ma. Margarita Valdés-Dapena Vivanco

INTRODUCCIÓN

Las bacterias que conforman la familia *Enterobacteriaceae* están constituidas por bacilos gramnegativos no esporulados, que fermentan y oxidan la glucosa, carecen de indofenol oxidasa, reducen los nitratos a nitritos y se hallan ampliamente distribuidos por la naturaleza; muchas de sus especies tienen como hábitat el intestino del hombre y los animales, mientras que otras pueden parasitar a plantas o tener vida saprofítica.

Pueden ser móviles por medio de flagelos peritricos, o pueden carecer de estos y ser inmóviles.

Las especies que se encuentran en ella son de las que más frecuentemente se identifican en los laboratorios de microbiología clínica como causa de infecciones tanto comunitarias como nosocomiales.

Entre las infecciones que ocasionan, se señalan: infecciones entéricas o infecciones fuera del tracto intestinal.

La clasificación y nomenclatura de esta familia ha sido y es muy cambiante, por lo que existen diversas clasificaciones para sus miembros.

A nuestro criterio, una de las clasificaciones que más ayuda en el diagnóstico de los miembros de esta familia es la presentada por Farmer y utilizada en los laboratorios de bacteriología entérica del Centro de Prevención y Control de Enfermedades.

Los géneros que conforman esta familia son: *Budvicia*, *Buttiauxella*, *Cedecea*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia-Shigella*, *Ewingella*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Koserella*, *Leclercia*, *Leminorella*, *Moellerella*, *Morganella*, *Obesumbacterium*, *Pragia*, *Proteus*, *Providencia*, *Rhanella*, *Salmonella*, *Serratia*, *Tatumella*, *Xenorhabdus*, *Yersinia* y grupos entéricos.

Cada uno de estos grupos está conformado por una o más especies bacterianas con características fenotípicas y genotípicas muy similares, que a su vez están ampliamente distribuidas en la naturaleza, en el agua, en la tierra y en el intestino del hombre y los animales, así como en sus superficies expuestas al medio ambiente.

No todos los géneros y especies que integran esta gran y compleja familia se hallan como frecuente causa de enfermedad; de ellos, alrededor de 25 especies han sido confirmadas como presentes en patología humana.

Las primeras clasificaciones realizadas a esta familia se basaron en las características fenotípicas y estudios serológicos. Estas clasificaciones han variado mucho, lo que ha dado lugar a que nuevas especies se hayan incorporado a las ya conocidas.

En la actualidad, se añaden a los estudios ya establecidos por comportamiento fisiológico y carga antigénica de estas bacterias, los de hibridación de ADN y análisis computarizados. Las investigaciones para sus clasificaciones abarcan desde las reacciones bioquímicas hasta estudios de resistencia, fagotipaje, presencia de toxinas y análisis sobre las lesiones en la mucosa entérica.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Las enterobacterias son bacilos gramnegativos que, en ocasiones, en cultivos jóvenes, se pueden observar formas cocobacilares y hasta cocoides. Sus bordes son rectos y sus extremos, curvos. En algunas especies como *Proteus*, las formas jóvenes pueden presentarse formando filamentos.

El tamaño promedio de la mayoría de estas bacterias oscila entre 0,5 y 2 μ m de ancho, y de 2 a 4 μ m de largo.

La presencia de una cápsula puede ser observada en *Klebsiella*, aunque en algunas cepas de *E. coli* es posible apreciar esta misma estructura.

Las bacterias pertenecientes a esta familia no pueden clasificarse sobre la base de la coloración de Gram, puesto que todos sus miembros se presentan con la misma forma y afinidad tintoreal.

Cultivo. La temperatura óptima de crecimiento de la mayoría de sus especies es de 37 °C, aunque algunas *E. coli* y *Salmonella* toleran temperaturas hasta de 42 °C, y otras como *Yersinia* y *Serratia* pueden crecer a baja temperatura, entre 1 y 5 °C.

De acuerdo con sus requerimientos de oxígeno son aeróbicas o anaeróbicas facultativas.

Los requerimientos de nutrientes en el metabolismo de los miembros de esta familia no son altamente exigentes y crecen de manera muy similar, cualquiera de sus especies, en la mayoría de los medios que se utilizan, por lo general, en el laboratorio de microbiología clínica diagnóstica, desde un agar nutriente, agar-sangre, agar-sangre-chocolate o caldo nutritivo.

Características del crecimiento. En los medios sólidos se observan colonias relativamente grandes, de color grisáceo, de aspecto húmedo y de bordes definidos. *Klebsiella* da lugar en estos medios a colonias mucoides que tienden a levantarse con el asa de forma filamentosa; esta característica se corresponde con la presencia de la cápsula, por lo que otras colonias pertenecientes a otras especies de enterobacterias pueden presentar las mismas características. Las colonias que pertenecen a *Proteus* se esparcen en la superficie como una sábana.

En los medios líquidos, las cepas de enterobacterias enturbian el medio homogéneamente.

Las diversas tribus, géneros y especies que conforman la familia *Enterobacteriaceae*, no pueden ser diferenciados en los medios universales. La diferenciación primaria de las distintas especies se fundamenta en la presencia o ausencia de enzimas codificadas por el material genético cromosomal o adquiridas por medio de plásmidos. Estas enzimas se presentan en alguno de los pasos del metabolismo bacteriano y pueden ser detectadas usando medios diferenciales o selectivos, así como medios para estudios de utilización de sustratos como son los carbohidratos y para decarboxilación o deaminación de aminoácidos, a los cuales, además del sustrato seleccionado, se les añade un indicador para poder detectar la utilización de este en el metabolismo bacteriano.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

La familia *Enterobacteriaceae* se caracteriza por tener antígenos somáticos (O) que determinan los grupos serológicos; se han identificado más de 150 de estos antígenos formados por lipopolisacáridos que poseen la característica de ser termoestables, y pueden ser reconocidos por métodos de evidencia como la aglutinación y la hemaglutinación pasiva; la respuesta de tipo inmune frente a estos antígenos es predominantemente de IgM. Cada uno de los géneros de *Enterobacteriaceae* se caracteriza con antígenos O específicos, y pueden estar presentes más de uno de estos antígenos O en un mismo microorganismo. En

ocasiones se manifiesta en *Enterobacteriaceae* entrecruzamiento antigénico entre los antígenos O de una especie con otra. Los antígenos K presentes en aquellas cepas que poseen cápsulas, pueden estar constituidos por polisacáridos o proteínas, son termolábiles y se han reconocido hasta el momento más de 100 antígenos diferentes; estos antígenos K interfieren con el reconocimiento de los antígenos O, actúan como adhesinas y desempeñan un importante papel en la virulencia de las cepas; los antígenos K1 de las cepas de *E. coli* están presentes en las que producen meningitis del neonato. Estos antígenos capsulares pueden ser reconocidos por medio de reacciones de aglutinación o mediante la reacción de hinchazón de la cápsula utilizando anticuerpos específicos para estos antígenos.

Algunas enterobacterias como *Salmonella* poseen antígenos M presentes que son antígenos de cubierta. El antígeno Vi es un antígeno somático externo que se halla en la *Salmonella typhi* y en algunas cepas de *E. coli* y *Citrobacter*. Los antígenos H se relacionan con los flagelos de las cepas móviles; se han reconocido más de 50 de estos antígenos, los cuales están constituidos por flagelina, que es la proteína flagelar; se destruyen con el calor y se aglutinan con anticuerpos anti-h, principalmente con IgG. Dentro de un mismo serotipo se puede presentar más de un antígeno flagelar, mostrándose en dos fases: fase 1 (representados por letras minúsculas) y fase 2 (representados por números arábigos). Los microorganismos pueden variar de una fase a otra, lo cual se denomina *variación de fase*. Internacionalmente se han propuesto diversos esquemas para la clasificación serológica de esta familia; algunos de ellos, como los de *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* y *Klebsiella* están estandarizados otros mantienen las clasificaciones de los laboratorios de referencia que estudian las cepas de los distintos grupos.

BACTERIOCINAS

Las colicinas son sustancias bactericidas producidas por *E. coli*, que tienen actividad contra algunas cepas de su misma especie o de especies relacionadas. Se relacionan, además, con la presencia de un plásmido en las cepas que las producen y las cepas que lo portan son resistentes a su propia bacteriocina, por lo cual puede ser utilizado para la determinación de tipo en algunas especies de enterobacterias.

ENDOTOXINAS

Las bacterias gramnegativas se caracterizan por poseer una membrana interna y otra externa conformadas por capas de lípidos y transmembranas proteicas; la porción más visible de la membrana externa contiene un lípido único, un lipopolisacárido (LPS), que es una barrera contra los agentes liposolubles, enzimas líticas y metales pesados. Este LPS contiene un carbohidrato altamente variable, el antígeno O. Este LPS le confiere a la célula bacteriana protección contra la lisis mediada por complemento y contra la fagocitosis.

Se considera que el LPS es un factor de virulencia de las bacterias gramnegativas y es altamente patogénico cuando es liberado en el torrente circulatorio, por lo que puede producir shock endotóxico y llevar hasta la muerte a un paciente en el cual se dé esta condición. Su unión a los macrófagos da lugar a un sistema de señales caracterizado por la liberación de citoquinas y otros mediadores presentes en el shock endotóxico.

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

Los microbiólogos, médicos de asistencia, epidemiólogos y otro personal de la Salud deben permanecer muy alerta en el comportamiento de esta familia frente a los antibióticos, pues constantemente emergen cepas resistentes que causan graves problemas, sobre todo con afecciones debidas a infecciones adquiridas dentro de las unidades de Salud. La resistencia en estas cepas se debe, en lo fundamental, a la adquisición de un plásmido (R) que le confiere esta característica o ser una resistencia intrínseca. (Ver capítulo sobre "Resistencia antimicrobiana".) La resistencia a los agentes antimicrobianos varía notablemente en esta familia, la misma especie puede presentar patrones de resistencia muy diferentes de una

institución a otra e, incluso, dentro de una misma institución de una sala a otra. Así mismo, los patrones de resistencia de las cepas aisladas de infecciones nosocomiales difieren de aquellos de las cepas identificadas a partir de infecciones comunitarias.

INFECCIONES EN EL HOMBRE

Las infecciones por los miembros de esta familia se pueden clasificar en: infecciones intestinales e infecciones extraintestinales, tomando en cuenta su localización.

Desde el punto de vista de su origen pueden ser: infecciones comunitarias o infecciones nosocomiales.

INFECCIONES INTESTINALES

Las infecciones intestinales están limitadas a las producidas por las seis clases de *E. coli* que en la actualidad se consideran como patógenas entéricas, estas son: *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), *E. coli* enterohemorrágica (ECEH), *E. coli* enteroagregativa (ECEA), *E. coli* difusamente adherente (ECDA) y a las producidas por *Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia enterocolitica*.

Otros miembros de *Enterobacteriaceae* como: *Citrobacter*, *Proteus*, *Morganella*, *Enterobacter*, *Hafnia* y *Serratia*, principalmente cuando se encuentran cultivos puros en las heces fecales, han sido relacionados, en ocasiones, con la producción de diarreas. Muchas veces esta situación está relacionada con un cambio de la flora normal del intestino humano.

E. coli como patógena entérica

La *E. coli* es el principal representante de la flora intestinal normal del hombre y los animales, sin embargo, existen cepas productoras de diarreas que pueden dar lugar a cuadros leves, evolucionar hasta la diarrea persistente u originar complicaciones que pueden llegar hasta la muerte de un paciente.

Las cepas de cualquiera de las seis clases de *E. coli* productoras de diarreas, anteriormente señaladas, se presentan en los cultivos primarios, en los medios diferenciales, como cepas fermentadoras de la lactosa, por lo que no pueden distinguirse las clases en estos primos cultivos y hay que utilizar otros métodos que se explicarán en cada tipo de *E. coli* para poder hacer su diferenciación. Cada una de estas categorías tiene sus propios patrones clínicos, sus características epidemiológicas y patogénicas, y su diferenciación serológica, así como diversas formas de interactuar con la mucosa intestinal.

E. coli enteropatógena (ECEP)

Esta fue la primera clase de *E. coli* descrita como causa de diarreas, pero debido a que se puede presentar en la flora intestinal de individuos sanos, su papel como patógeno entérico ha sido relegado en muchas ocasiones.

No obstante, su participación en brotes y epidemias de diarreas siempre se ha tomado en consideración desde que en 1940, en Londres y Abarden, se identificaron serogrupos de ECEP como causa de estos procesos.

Los serogrupos que conforman esta clase de *E. coli* son los siguientes: O 26; O 55; O 111; O 117; O 86; O 119; O 124; O 125; O 126 y O 128. En la actualidad, los serogrupos O 119 y O 26 han sido reagrupados dentro de la categoría de ECEH por su acción patogénica.

La ECEP se diferencia de otras categorías por sus habilidades para determinar sus características histopatológicas conocidas como adhesión y borramiento (A/E), y su inhabilidad para producir citotoxinas.

Los estudios realizados *in vitro* en relación con la unión de ECEP a la célula del hospedero, han permitido definir tres etapas en el fenómeno de adherencia y borramiento:

1. Adherencia inicial.
2. Transducción de la señal por medio de proteínas secretadas.
3. Íntima unión: intimina.

Adherencia inicial. Está en relación con la característica de ECEP de formar densas microcolonias en la superficie de la célula, dando lugar al patrón denominado *adherencia localizada*. Esta característica está asociada a un plásmido de gran tamaño que es común a estas cepas y que está unido a la producción de fimbrias tipo IV conocido como BFP (pilis en forma de haz o mechón); recientemente se han reportado los 14 genes que caracterizan el *cluster bfp* del plásmido de ECEP, los cuales determinan la biogénesis del BFP.

Otro elemento que se requiere para la adherencia localizada es una enzima periplasmática que es indispensable para la unión disulfuro de proteínas, la cual está codificada por el gen *dsba*.

En una segunda etapa, cuando se adhiere ECEP a las células epiteliales, se producen los cambios conocidos como A/E. El borramiento se refiere a la pérdida de las microvellosidades del enterocito.

Los genes necesarios para que ocurra A/E están localizados en la región 35480 bp del cromosoma llamado *locus para el borramiento del enterocito* (LEE), y todas las bacterias que producen borramiento poseen este locus.

En el borramiento, la membrana epitelial que se encuentra por debajo de la *E. coli* adherida se eleva localmente para formar pedestales, que en ocasiones crean estructuras que semejan pseudópodos. Estos pedestales se deben al reordenamiento de las células del citoesqueleto de las células del hospedero, ya que algunos componentes como son: la actina, la alfa-actina y las cadenas cortas de miosina, se acumulan en las células epiteliales por debajo de donde se halla adherida *E. coli* enteropatógena. Además de estos elementos, se encuentran otros dos: el talin y el ezrin, los cuales son las moléculas que unen la actina a la membrana de las células. En el tope de los pedestales está presente la tirosina fosforilada. La depolimerización localizada de filamentos de actina dentro de las microvellosidades, da como resultado la retracción de estas y el borramiento posterior a la depolimerización del pool de monómeros de actina puede localizarse por debajo de los microorganismos adheridos y repolimerizarse, para así formar los pedestales.

Transducción de señales. La ECEP posee un sistema excretor tipo III; este sistema, llamado *sep*, está localizado en el gen *eae* en LEE. Las proteínas Esp A y Esp B secretadas por este sistema son las responsables de activar las vías de transducción de la señal, incluyendo la fosforilación del inositol, la fosforilación de la tirosina, la depolimerización celular, el reacondicionamiento de la actina y la unión a la íntima.

Íntima unión: íntima. La íntima es una proteína de la membrana externa del microorganismo que se requiere para la íntima unión. El receptor para la íntima también lo codifica LEE. Esta proteína codificada por LEE anteriormente se llamó Hp 90, pero en la actualidad se denomina TIR (receptor translocado de íntima), el cual es segregado por ECEP y enviado a la célula del hospedero por el sistema secretor III. Al llegar a la célula del hospedero se produce la fosforilación de TIR y es en ese lugar donde ocurre la íntima unión de ECEP a la célula. Esta unión induce a la transmigración de neutrófilos, sugiriendo que los mecanismos inflamatorios también pueden inducir a la diarrea.

Como consecuencia de la acción patógena de ECEP se produce: la presencia de polimorfonucleares que pueden activar el receptor apical de adenosina y activar la secreción de Cl⁻; aumento de la permeabilidad por activación de las cadenas ligeras de miosina que abre las íntimas uniones y disminución de la superficie de absorción por borramiento de las microvellosidades, lo que da lugar a que la diarrea producida por ECEP pueda evolucionar hacia una diarrea persistente y, por consecuencia, a todas las alteraciones que esto puede ocasionar en el paciente, principalmente en niños en cuanto a su nutrición y desarrollo.

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico microbiológico de las cepas de ECEP se basa en el aislamiento a partir de medios diferenciales utilizando heces recién emitidas.

La selección de las colonias se hace basada en aquellas que fermentan la lactosa, pasando posteriormente al estudio fisiológico completo de la cepa y después de haber comprobado que se está en presencia de *E. coli*, se realiza el estudio serológico de grupo mediante la aglutinación en lámina utilizando sueros comerciales OK. La comprobación de la

aglutinación se efectúa por medio del método de aglutinación en tubo, empleando los mismos sueros comerciales y siguiendo la técnica descrita para este método. Los estudios de los antígenos H de estas cepas se llevan a cabo sólo en los centros de referencia internacionalmente reconocidos para *E. coli*.

***E. coli* enterohemorrágica (ECEH)**

La ECEH (O 157:H7) pertenece a la categoría de *E. coli* altas productoras de verotoxinas (VT) o citotoxinas; otras *E. coli* como los grupos O 2; O 7; O 113; O 145; O 1; O 5; O 18 y entre los serogrupos anteriormente agrupados como ECEP el O 26; O 111 y O 119, también son productores de citotoxinas, pero el mejor estudiado de ellos y el que produce cuadros más alarmantes es el O 157:H7.

Este microorganismo fue descrito por vez primera en 1982, en brotes por ingestión de hamburguesas, caracterizado por diarreas sanguinolentas, el cual ocurrió en Michigan y en Oregón, no habiendo sido identificado con anterioridad este serotipo de *E. coli* como causa de diarrea. Whittman ha planteado que este serotipo descende de una clona ampliamente distribuida en América del Norte y en estudios genéticos realizados se ha comprobado que su relación con otros serogrupos productores de citotoxina es lejana.

Desde el punto de vista fisiológico, estas cepas se caracterizan por ser en un 95 % sorbitol negativo, y se han descrito fenotipos atípicos no productores de indol y que no utilizan el citrato como fuente de carbono.

Serológicamente el antígeno somático es el O 157 y las cepas móviles poseen el antígeno H7, aunque hay cepas que carecen de este antígeno y son H-.

Patogenia

Entre los factores de virulencia de estas cepas está la producción de hemolisinas. Estas pueden ser: la hemolisina alfa, la cual es posible determinar por anticuerpos monoclonales o hibridación del ADN, y la hemolisina beta o enterohemolisina, que sólo puede detectarse con el uso de medios especiales elaborados con sangre lavada. Esta enterohemolisina se relaciona con la producción de VT y algunos autores señalan hasta un 89 % de correlación.

Otra característica de estas cepas relacionadas con la producción de VT es la fluorescencia por la 4-metil-lumbelil-feril-beta-D-glucorónico (MUG), la cual es negativa en las cepas productoras de VT.

Las citotoxinas, verotoxinas o Shiga-like toxins están entre los factores de virulencia de ECEH.

Las cepas pueden tener presentes la VT1 y la VT2, sólo una de ellas o ser VT- y aun así ser capaces de producir enfermedad por otros mecanismos que más adelante serán descritos.

La VT1 es antigénicamente similar a la Shiga-toxina e idéntica desde el punto de vista biológico. Su secuencia de aminoácidos demuestra una homología mayor que 90 %.

Tanto la Shiga-toxina como la VT están formadas por dos subunidades, la A y la B, y su información marcha a la par; en el caso de la Shiga-toxina está en relación con un gen del cromosoma bacteriano, mientras que la información de la VT1 está dada por un fago temperado.

La VT2 es antigénicamente distinta a la Shiga-toxina y a la VT1, pero biológicamente idéntica. Posee, igual a la anterior, dos subunidades, las cuales también están en relación con un fago temperado.

La producción de citotoxinas está en correspondencia con fagos que según una clasificación llevada a cabo en Canadá se relacionan del 1 al 14, perteneciendo la mayoría de las cepas al fago 1 o los relacionados con el 4; 8 y 14.

Tanto la VT1 como la VT2 interfieren con la síntesis de proteínas, insertando una unión N-glicósido en la posición residual 4324 del 60 ribosoma del ARN de las células de los mamíferos. Así, la VT1 inhibe la absorción de agua y sales por los enterocitos, a lo que se debe la diarrea acuosa primaria.

La presencia de fimbrias es otro factor a considerar (F-A, factor de adherencia) en la virulencia de ECEH. Este factor está relacionado con un plásmido de 55 a 75 MDa (CVD419). La presencia de este plásmido da lugar a las fimbrias, lo cual permite que, al ocurrir la adhesión, sea más eficaz la liberación de citotoxinas al interior de la célula del epitelio intestinal.

El efecto A/E (adhesión y borramiento) en el borde en cepillo se caracteriza por la destrucción localizada de las microvellosidades y una intensa unión de la bacteria a la membrana apical del enterocito. Densas concentraciones de filamentos de actina están presentes en el citoplasma apical por debajo de las bacterias adheridas.

En ECEH cuando se usa la microscopía electrónica y la falotoxina marcada con fluoresceína, se han demostrado intensas manchas fluorescentes que corresponden a los filamentos de actina (FAS).

Estas dos últimas características, la A/E y FAS, son los mejores indicadores de la patogenicidad de ECEH y no se relacionan ni con el plásmido fimbrial ni con el fago de las citotoxinas.

Epidemiología

La diseminación puede ser de persona a persona, por alimentos contaminados como la carne, la leche y el agua no tratada.

El reservorio de ECEH puede ser el hombre, las aves, los corderos, el ganado bovino y los cerdos.

La dosis infectante es baja, aunque no se conoce con exactitud.

Se ha descrito este microorganismo como causa de enfermedad en Canadá, Estados Unidos de Norteamérica, Reino Unido, Argentina y Cuba, entre otros. En Cuba, Valdés-Dapena y col. lo citan como una de las principales causas de diarreas infantiles. La estacionalidad es variable, en los Estados Unidos de Norteamérica se ha descrito más frecuentemente de junio a septiembre; en Cuba, según datos de Valdés-Dapena y col., se detecta durante todo el año.

El estado de portador se puede observar, principalmente, en niños con períodos de excreción de aproximadamente 30 días después de la enfermedad.

Las edades más frecuentes son las extremas de la vida, aunque en realidad, por su forma de transmisión, a cualquier edad puede contraerse la infección.

Datos clínicos

La enfermedad puede aparecer en forma de brotes o presentarse en casos esporádicos. La incubación del microorganismo dura de 2 a 3 días hasta 2 semanas. La infección puede ser inaparente, y constituir esta población los portadores del microorganismo; puede presentarse en la forma clínica de colitis hemorrágica o dar lugar a una diarrea sin sangre, la cual es una de las formas en que más frecuentemente se aísla este microorganismo en Cuba, según reportan Valdés-Dapena y col. La forma mejor descrita es la colitis hemorrágica, que se caracteriza por comenzar con una diarrea acuosa y después presentarse la sangre en las heces fecales. La fiebre está casi siempre ausente y puede estar acompañada de vómitos o no. La evolución subsiste desde pocos días hasta 2 semanas.

Como complicaciones de esta infección se han señalado: el abdomen agudo por colitis isquémica, la neumonía, el edema pulmonar, infarto del miocardio, convulsiones y coma. Otras complicaciones frecuentemente descritas son el síndrome urémico hemolítico y la púrpura trombocitopénica trombótica, las cuales se han relacionado con la presencia de la VT1. En trabajos realizados en nuestro medio por Rodríguez y col. no se describen estas complicaciones.

Aunque desde el punto de vista de la resistencia antimicrobiana, ECEH presenta una amplia sensibilidad, el uso de antibióticos no es recomendado, pues en los casos donde se han empleado es en aquellos que con más frecuencia han presentado complicaciones, relacionándose este efecto con la desaparición de la flora intestinal y la permanencia de las

cepas ECEH resistentes, así como mayor liberación de la citotoxina por lisis de la célula bacteriana.

Diagnóstico de laboratorio

Examen directo. En el examen directo de heces fecales la presencia de polimorfonucleares es escasa o no están presentes.

La identificación del microorganismo se hace por métodos directos o métodos indirectos.

Cultivo (método directo). Se debe hacer con heces fecales recién emitidas en los primeros 6 días de la enfermedad. El aislamiento se hace en medio Mac Conkey con sorbitol, donde se observan las colonias blancas que indican la no utilización de este sustrato. Según Valdés-Dapena, puede usarse el Mac Conkey con lactosa y hacer la selección de colonias fermentadoras de este carbohidrato e inocularse en tubos con sorbitol al 1 %, para determinar a las 24 horas el no empleo del sorbitol.

Todas las cepas deben ser comprobadas por medio de estudios fisiológicos que son *E. coli* y posteriormente ser enfrentadas al suero clasificador O 157 para determinar el serogrupo.

Otro método utilizado es el de la determinación de VT, que puede hacerse directamente a partir de filtrados de heces fecales o de colonias aisladas. Las técnicas a utilizar para este fin son: el cultivo en células Vero para observar la citotoxicidad, la hibridación del ADN cromosomal, por la reacción de la polimerasa en cadena (PCR) o por el método de inmunoensayo enzimático (ELISA).

La determinación del plásmido puede llevarse a cabo por medio de la hibridación del ADN o por PCR. La enterotoxina alfa es posible detectarla por anticuerpos monoclonales o por ELISA y la beta, utilizando placas de agar-sangre de carnero lavada. La adherencia se detecta por la inoculación de ECEH en cepas HEp-2 y se observa la adherencia localizada característica.

La fluorescencia puede determinarse por el uso de medios especiales, así como la presencia de actina por coloraciones fluorescentes y el uso de la microscopía electrónica.

Entre los métodos indirectos se han descrito la determinación de anticuerpos utilizando sueros pareados contra los antígenos O y la determinación de antitoxina contra VT.

E. coli enteroinvasiva (ECEI)

Existen algunas cepas de *E. coli* que producen una diarrea indistinguible de la producida por *Shigella*. La primera descripción de este agente se realizó a partir de aislamientos realizados en Italia en 1945, los cuales fueron diagnosticados como *Paracolonbactrum*; posteriormente se identificó con *E. coli* O 124:H30.

En los estudios antigénicos se ha comprobado una relación cercana en el ADN de estas cepas con *Shigella* y algunas cepas comparten los mismos antígenos O, como ocurre con el antígeno O de *Shigella dysenteriae* 3 y el antígeno somático de ECEI O 124.

Los serogrupos que más frecuentemente se han relacionado con esta categoría de *E. coli* son los siguientes: O 28 ac N; O 29: NM; O 112 ac NM; O 115: NM; O 124: NM; O 124:H7; O 124:H30; O 135: NM; O 136:NM; O 143:NM; O 144:NM; O 152:NM y O 164:NM y O 167:NM; siendo el O124 el más diagnosticado.

Desde el punto de vista fisiológico, esta clase de *E. coli* semeja a *Shigella*, su imagen en el medio de agar-hierro Kligler es idéntica. No fermentan la lactosa o la fermentan tardíamente; son inmóviles y no decarboxilan la lisina.

Esta clase de *E. coli* es una de las más difíciles de diagnosticar, pues su identificación se basa, fundamentalmente, en sus mecanismos patogénicos.

Los métodos utilizados en el laboratorio para el diagnóstico de estas cepas, además de los estudios fisiológicos de las mismas, son: el serológico para la determinación de antígeno O, la prueba de Séreny en la conjuntiva del cobayo, el test de ELISA y la invasividad en células HEp-2 o células HeLa.

Patogenia y patología

La ECEI produce enfermedad por los mismos mecanismos que *Shigella* comprende la penetración en el epitelio celular, lisis de la vacuola endocítica, multiplicación intracelular, movimiento direccional a través del citoplasma y extensión dentro de las células del epitelio adyacentes. Cuando la infección es severa, estos eventos dan lugar a una gran reacción inflamatoria, y se producen las ulceraciones. La lesión ocurre en la mucosa colónica. Los genes necesarios están en un plásmido de 140 MDa. El plásmido relacionado con la invasividad ha sido designado como pInv. El aparato secretor tipo III codificado por los genes *mxi* y *spa* es el responsable de la secreción de múltiples proteínas que son necesarias para completar el poder patógeno de este microorganismo. La proteína IpaC se ha demostrado que es la responsable de la entrada del microorganismo en la célula eucariótica, mientras que la IpaB se relaciona con la lisis de la vacuola fagocítica y la inducción de la apoptosis en los macrófagos. El movimiento dentro del citoplasma parece estar mediado por la enucleación de la actina celular en forma de cola, la cual se extiende de uno de los polos de la bacteria y origina la propulsión de esta a través del citoplasma.

El gen designado como *sen*, portado por un plásmido, codifica una proteína de 63 kDa, que parece estar relacionada con una enterotoxina portada por las cepas que lo poseen.

Epidemiología

La enfermedad por este microorganismo es poco frecuente tanto en países desarrollados como en los que están en vías de desarrollo; en Cuba, Valdés-Dapena plantea la misma situación, por lo que las características epidemiológicas de la enfermedad son poco conocidas. La transmisión por alimentos contaminados ha sido la más habitual, aunque también se ha señalado la transmisión de persona a persona. La dosis infectante que se ha determinado en voluntarios es alta.

Cuadro clínico

Las manifestaciones clínicas producidas por este microorganismo semejan a la shigelosis, diarreas mucopiosanguinolentas, cólicos y tenesmos. La fiebre puede estar presente y en las heces fecales se reporta la presencia de polimorfonucleares.

La evolución es autolimitada, con duración de 1 o 2 días; la hospitalización muy raramente se requiere y no se ha reportado muerte debido a la infección por ECEI.

Diagnóstico de laboratorio

Es muy difícil hacer el diagnóstico diferencial entre estas cepas y *Shigella*, ya que poseen las características bioquímicas de *E. coli* con las características genotípicas y fenotípicas de *Shigella*.

La característica de invasividad se estudia por la reacción de Séreny en la conjuntiva del cobayo, así como por la invasión en estudios en células HeLa. Estudios de hibridación del ADN, de la reacción de polimerasa en cadena (PCR) y ELISA se aplican para la detección de los plásmidos que le confieren la virulencia a este microorganismo.

E. coli enterotoxigénica (ECET)

Este microorganismo fue reconocido por vez primera como agente causal de diarreas en estudios realizados en la India y Bangladesh en 1968.

Las ECET, especialmente aquellas que poseen los factores CFA/I y CFA/II, están entre los patógenos que más frecuentemente producen diarreas en los niños de los países en vías de desarrollo y son causa importante de la “diarrea del viajero”.

Clasificación serológica

Actualmente se relacionan con esta categoría de *E. coli* los siguientes serotipos: O 6:H16; O 8:NM; O 8:H9; O 11:H27; O 15:H11; O 20:NM; O 25:NM; O 27:H7; O 27:H20; O 63:H12; O 78:H11; O 78:12; O 85:H7; O 114:H21; O 115:H21; O 126:H9; O 128 ac:H7; O 128ac:H12; O 128ac:21; O 148:H28; O 149:H4; O 159:H4; O 159:H20; O 166:H27; O 167:H5.

Patogenia

La patogenia de la diarrea producida por ECET se relaciona con la colonización del intestino delgado y la elaboración de la enterotoxina secretora.

Por definición, las ECET son aquellas cepas de *E. coli* que producen enterotoxinas termolábil (TL), termoestable (TS), o ambas.

Las que poseen ambas toxinas son claramente patógenas, así como las que tienen la toxina termoestable (TS), la importancia de la TL+ no está bien definida.

Las adhesinas o factores de colonización de ECET (CFAs) han sido identificados y caracterizados. Dos plásmidos son los que codifican los factores de colonización: el CFA/I y CFA/II; otros factores de adhesión han sido reportados, como son el CFA/III y el CFA/IV.

Algunos serotipos poseen adhesina fimbrial llamada E 8775.

El genoma que codifica para CFA/I se encuentra en el mismo plásmido que porta para la producción de TS. Típicamente, la ECET CFA/I porta, además, un segundo plásmido que codifica para TL. El genoma que codifica para CFA/II se halla en un plásmido que usualmente lleva los genes para TS y TL.

Este sistema de plásmidos ocurre en los diferentes serotipos de ECET, de manera tal que algunos producen CFA/I y otros CFA/II, pero nunca ambos. Otros elaboran la adhesina E 8775 y pueden ser TS+ o TS+ y TL+.

Características de las toxinas

Las toxinas TL son toxinas oligoméricas íntimamente relacionadas con la toxina colérica (CT) tanto desde el punto de vista estructural como funcional; su homología con esta toxina es de un 70 a 80 % en la secuencia de sus aminoácidos.

Existen dos grupos principales de esta enterotoxina, la TL/I y la TL/II, las cuales no presentan reacciones cruzadas inmunológicamente. La TL/I es expresada por cepas de *E. coli* que son patógenas tanto para el hombre como para los animales, mientras que la TL/II se identifica, principalmente, en cepas de origen animal; nunca ha sido asociada con enfermedad ni en hombres ni en animales.

Poseen dos subunidades, la A y la B; la primera activa la adenilciclase de los enterocitos. La subunidad B es la responsable de su unión al gangliósido de los enterocitos.

La toxina TL/II tiene de un 55 a 57 % de identidad con la TL/I y la CT en la subunidad A, pero no existe esta homología con la subunidad B de esta enterotoxina. Se han descrito dos variantes antigénicas en esta toxina, la TL/IIa y la TL/IIb. La TL/II también actúa activando la adenilciclase.

Las toxinas TS son monoméricas y pequeñas; contienen grandes cantidades de cisteína residual, cuyas uniones disulfuro le dan la característica de estabilidad al calor. Existen dos clases de esta enterotoxina, la TSa y la TSb, las cuales difieren en estructura y mecanismos de acción. Los genes para su codificación se encuentran localizados, principalmente, en plásmidos.

La TSa tiene dos variantes: la TSp, identificada al principio en los porcinos; y la TSh, reconocida primeramente en los humanos; en la actualidad se pueden identificar en ambas especies.

El principal receptor para TSa es la enzima de membrana, llamada guanilatociclase. Esta actividad lleva en última instancia a la estimulación de la secreción de cloruros y (o) la inhibición de la absorción de cloruro de sodio.

La TSb difiere en cuanto a su homología de TSa, aunque contiene cuatro residuales de cistina que forman las uniones disulfuro. Esta toxina induce al daño histológico de las

células epiteliales y atrofia parcial de las vellosidades. Su receptor se desconoce, aunque actualmente se plantea su posible unión a la membrana plasmática antes de ocurrir la endocitosis. Su estimulación no es sobre el ion cloro; esta toxina estimula la secreción de bicarbonato de las células intestinales.

En la década de los años 70 se comprueba que su acción patógena es similar a la de *V. cholerae* 01, ambos colonizan el intestino delgado. La ECET lleva a cabo la colonización por medio de los factores de colonización CFA/I-IV, lo cual permite su adhesión a la mucosa del epitelio intestinal proximal y la producción de las enterotoxinas TS y TL.

La subunidad A de la toxina TL activa irreversiblemente la enzima intracelular adenilatociclase, lo cual conduce a una acumulación intracelular de adenosina monofosfato cíclico (AMPc). El aumento de AMPc causa un cambio en la función de los enterocitos, produciendo un incremento en la secreción por los enterocitos de las criptas intestinales y una disminución de la función de absorción por los enterocitos localizados en los ápices de las vellosidades intestinales. Esto da lugar a la diarrea líquida. La toxina TS activa la enzima intracelular guanilatociclase, lo que lleva a un acúmulo intracelular de guanosina monofosfato cíclico (GMPc) y aumenta la secreción por incremento del calcio del citosol.

Cuadro clínico

Se caracteriza por diarreas acuosas sin la presencia de moco, sangre o pus. En pocos pacientes se observa el vómito y la fiebre. La diarrea puede evolucionar de forma autolimitada en manera leve o hacia formas coleriformes graves que llevan a la deshidratación. El cuadro clínico puede variar desde 1 a 5 días, o extenderse hasta 21 días.

En el examen directo de las heces fecales no se observan polimorfonucleares.

El uso de antibióticos indebidamente en esta diarrea ha dado lugar a la aparición de cepas altamente resistentes, por lo cual siempre debe tenerse presente el mantener el tratamiento basado en el equilibrio hidromineral, que es el principalmente afectado por este microorganismo.

Epidemiología

Es una infección propia de los países en vías de desarrollo y en aquellos lugares donde las condiciones higiénico-sanitarias son precarias.

El hombre es el principal reservorio, aunque algunas cepas han sido identificadas a partir del cerdo y bovinos.

Las vías de transmisión son, principalmente, el agua y los alimentos contaminados, aunque las manos también pueden ser vía de transmisión, sobre todo para los recién nacidos.

Métodos diagnósticos

Los métodos diagnósticos se basaron durante mucho tiempo en la detección de las toxinas TS y TL.

Los métodos que se describen para TL son los siguientes: inoculación en ratones lactantes; cultivo en células Y-1 o CHO; test de Biken; método de inmunoensayo enzimático (ELISA); aglutinación reversa pasiva; coaglutinación; aglutinación en látex y hemólisis inmunopasiva radial.

La toxina TS se estudió primero en el asa del conejo, pero fue remplazada por la inoculación en el ratón lactante; puede utilizarse, además, el radioinmunoensayo y ELISA.

Otro método empleado es la biotipificación basada en la utilización de: rafinosa, sorbosa, ornitina y dulcitol, la cual clasifica a ECET en ocho biotipos primarios (1; 2; 3; 5; 6; 9; 13; 14).

En la actualidad, los métodos de biología molecular se aplican a la determinación de TL y TS por medio de la hibridación del ADN y estudio del PCR (reacción de la polimerasa en cadena).

Un método de pesquisa ha sido descrito por Burke, el cual se ha utilizado en Cuba. En él emplea la sorbosa como un indicador fisiológico de ECET, ya que el 95,5% de estas cepas no usan este sustrato en su metabolismo.

***E. coli* enteroagregativa (ECEA)**

En el presente se engloba dentro de esta clase de *E. coli* a aquellas cepas que desde el punto de vista fisiológico muestran las mismas características del género *Escherichia*, que no producen toxinas ni TL ni TS y que se adhieren a las células HEp-2 con un patrón autoagregativo.

Patogenia

Los mecanismos patogénicos de esta clase de *E. coli* no están bien definidos, no obstante, la lesión histopatológica que ellos producen y sus factores de virulencia son muy conocidos.

Estas cepas producen un aumento del moco, el cual atrapa a la bacteria en un biofilm moco-bacteria. El papel del moco no ha sido bien definido, sin embargo, la formación de este espeso biofilm puede estar relacionado con el poder de esta bacteria para ocasionar diarrea y con su habilidad para producir colonizaciones persistentes y diarrea.

Además, se han señalado efectos citotóxicos en la mucosa intestinal, y se ha demostrado acortamiento en las microvellosidades, necrosis hemorrágica y una respuesta inflamatoria moderada con edema e infiltración de la submucosa con mononucleares. Por microscopía electrónica se ha demostrado que no existe alteración de la arquitectura de las microvellosidades sin invasión del enterocito; tampoco se detecta el efecto de adhesión y borramiento (A/E).

Se ha observado en algunas cepas un efecto citotóxico relacionado con genes codificados por un plásmido de 65 MDa.

La adherencia en esta clase de *E. coli* se relaciona con una estructura fimbrial denominada fimbria I de adherencia agregativa (AAF/I) y otra estructura fimbrial llamada fimbria II (AAF/II), aunque se plantea que existen otros factores relacionados con esta característica como es una proteína de la membrana externa. La responsabilidad de la actividad citotóxica en esta bacteria está relacionada con una proteína que es miembro de la familia de las proteínas autotransportadas.

Los mecanismos patogénicos pasan, entonces, por tres etapas:

1. Adherencia fimbrial.
2. Aumento de la producción de moco.
3. Actividad citotóxica.

El lugar de colonización del intestino aún no ha sido claramente demostrado, aunque en estudios experimentales se ha observado tanto en el intestino delgado como en el grueso.

Cuadro clínico

El período de incubación puede ser tan corto como 8 horas. Se observa la infección por esta bacteria tanto en casos esporádicos como en brotes epidémicos.

Los síntomas se traducen en una diarrea acuosa sin sangre, no se observa fiebre y pocos casos presentan vómitos. En algunos pacientes se ha descrito abundante sangre en las heces fecales; en estas puede detectarse la lactoferrina fecal como indicador leucocitario.

Epidemiología

Donde más se han estudiado estas diarreas es en los países en vías de desarrollo y se han relacionado, principalmente, con casos esporádicos con la presentación de la forma persistente de diarrea. Formas epidémicas se han descrito en guarderías infantiles y en salas de niños desnutridos, donde se han asociado con retraso en el crecimiento.

El excretor asintomático es frecuente, fundamentalmente, en áreas de países en vías de desarrollo.

Diagnóstico de laboratorio

Se basa en el aislamiento de estas cepas a partir de las heces de pacientes y la demostración del patrón autoagregativo (AA) en células HEp-2. Se puede aplicar la hibridación de ADN del plásmido que portan estas cepas, el estudio por PCR y otras técnicas como son: la formación de película en cultivo en caldo de Mueller-Hinton, así como en tubos o placas de poliestireno visualizada con Giemsa.

E. coli difusamente adherente (ECDA)

La mayoría de los autores consideran en la actualidad a *E. coli* con patrones de adherencia difusa como una clase distinta de esta especie. Hasta el momento, la patogenia de este microorganismo no es bien conocida. Se ha descrito una fimbria superficial que media el fenotipo de adhesión difusa designada como F 1845 y que está mediada por genes que pueden ser cromosomales o estar portados por un plásmido.

Estudios recientes han relacionado a estas cepas con la producción de diarreas, principalmente en niños de 1 a 5 años. Aún no se ha determinado su modo de transmisión; por estudios llevados a cabo en países desarrollados y el haber encontrado esta clase de *E. coli* en pacientes con diarrea, se ha planteado que puede desempeñar un papel importante como causa de esta enfermedad en esos países.

Las heces de los pacientes que adquieren esta infección son líquidas, sin sangre ni leucocitos.

Diagnóstico de laboratorio

Se hace por el patrón de adherencia difusa en las células HEp-2, también se ha diagnosticado por la hibridación de ADN, pero aún no se han desarrollado *primers* para llevar a cabo la reacción de PCR.

Shigella

Shigella spp. es el agente etiológico de la disentería bacilar (shigelosis), una de las causas más frecuentes de diarrea.

Este microorganismo fue primeramente descrito por Chantemesse y Widal en 1888, a partir de las heces fecales, del intestino grueso y de los ganglios mesentéricos de un soldado que murió a causa de esta enfermedad.

Pertenece al género *Escherichia-Shigella*, la relación del ADN de *Shigella* y *E. coli* es muy alta, desde el punto de vista de sus reacciones fisiológicas son difíciles de distinguir y serológicamente presentan un alto entrecruzamiento entre ambos grupos.

Características de los cultivos

Este microorganismo se presenta en los medios diferenciales y selectivos que contienen lactosa como colonias no fermentadoras de este carbohidrato, por lo cual se utiliza esta característica para la selección de colonias en los cultivos primarios. En el aislamiento de *Shigella* debe tenerse en cuenta que sus células son muy susceptibles a algunos inhibidores que contienen los medios selectivos y de enriquecimiento.

Shigella es inmóvil y lisina negativa, no produce gas a partir de la glucosa, con la excepción de algunas cepas de *S. flexneri* 6, *S. boydii* 13 y 14, y *S. dysenteriae* 3. No utilizan el citrato como fuente de carbono, no fermentan el mucato y no producen hidrólisis de la urea. En el medio de agar Kligler-hierro no se observa la producción de H₂S. *S. dysenteriae* no fermenta el manitol; no así *S. flexneri*, *S. boydii* y *S. sonnei* que utilizan este carbohidra-

to en su metabolismo. No obstante, en cualquiera de los anteriores grupos se pueden identificar biotipos que fermenten el manitol. *Shigella* no emplea la lactosa, con excepción de *S. sonnei* que la puede fermentar tardíamente. La producción de indol varía dentro de los distintos grupos, aunque *S. dysenteriae* 1, *S. flexneri* 6 y *S. sonnei* siempre son indol negativo.

Estructura antigénica

Basado en el antígeno somático O, *Shigella* se clasifica en cuatro grupos y dentro de estos en serotipos: *Shigella* grupo A (*S. dysenteriae*) con 10 serotipo; *Shigella* grupo B (*S. flexneri*), serotipos 1 al 6, X e Y; *Shigella* C (*S. boydii*) con 15 serotipos; y *Shigella* grupo D (*S. sonnei*) con un solo serotipo y dos fases, I y II.

El antígeno H no está presente en este grupo. No así el antígeno K que poseen algunos serotipos e interfieren con la clasificación de grupo; este antígeno K pertenece a la variedad B de estos antígenos.

Patogenia

La enfermedad está restringida a la mucosa intestinal, se localiza en la mucosa del colon y recto, y raramente ocurre la diseminación.

En la actualidad se plantea que en la shigelosis hay un desbalance entre un microorganismo invasivo y los mecanismos del hospedero que regulan la inflamación, expresando varios determinantes de patogenicidad que determinan el fenotipo invasivo, el cual está dado por un plásmido de gran tamaño que portan estas células. Este plásmido codifica el aparato excretor tipo III, que lleva alrededor de 15 proteínas efectoras, codificadas por los operones *mxi* y *spa*, directamente del citoplasma bacteriano a la superficie de las células epiteliales o a su citoplasma. Estas proteínas se dividen en dos categorías: la primera categoría incluye la IpaB, TpaC e IpaD, las cuales son las responsables de iniciar los eventos de invasión a la célula del hospedero.

La IpaB y la IpaD son controladoras del flujo de las proteínas por el sistema excretor cuando hay ausencia del sistema de señales. La IpaB y la IpaD forman un complejo que se inserta en la célula eucariótica dando lugar a un poro que presenta dos funciones: la polimerización de la actina vía IpaC y la inyección de varias proteínas dentro del citoplasma celular.

La segunda categoría de proteínas secretadas son: IpaA e IpgD. La IpaA tiene la capacidad de unir la vinculina, después de inyectada dentro de la célula, lo que permite la maduración del foco de entrada y crea densas condensaciones de actina que semejan a la adhesión localizada.

Este sistema secretor y sus proteínas son los responsables de que *Shigella* penetre dentro de las células y active la fagocitosis. Otras proteínas, además de las secretadas por el aparato secretor tipo III, son codificadas por el plásmido responsable de la virulencia en *Shigella*. Entre estas proteínas se encuentra la SepA, la cual es una proteasa serina secretada que aumenta la inflamación de los tejidos infectados; y la IcsA (VirG), que induce a la motilidad actinodependiente; esta última acción permite la dispersión célula a célula del patógeno en un proceso que engloba los componentes de unión celular. Cuando ocurre la protusión de la membrana celular y posteriormente la lisis de esta, favorece el escape de la bacteria hacia el citoplasma de nuevas células infectadas estableciéndose un efectivo sistema de colonización.

Los genes que posee *Shigella* para determinar su virulencia son tanto de carácter plasmídico como cromosomal. Los genes cromosomales se pueden dividir en dos categorías: los que regulan la expresión de virulencia en el plásmido y los genes a considerar en la sobrevivencia bacteriana en el intestino y en los tejidos infectados, como son aquellos que codifican para el lipopolisacárido celular y los sideróforos. En la *S. dysenteriae* 1 la Shiga-toxina está codificada por un gen cromosomal; además, también de carácter cromosomal son los elementos del sistema regulador para la expresión del fenotipo invasivo.

La entrada inicial de *Shigella* es por el folículo asociado al epitelio (FAE), que se localiza en los nódulos linfáticos unidos a la mucosa.

Las células M que forman parte del FAE proveen la ruta inicial a través del epitelio intestinal, las cuales, por sus características, son un punto asequible para la unión de las adhesinas bacterianas, pero este camino lleva a la bacteria a un medio agresivo, lleno de macrófagos. El que *Shigella* sobreviva en este medio se debe a la apoptosis de los macrófagos, inducida por IpaB, al escape de este microorganismo a los tejidos subepiteliales y a la invasión del tejido subyacente. La apoptosis de macrófagos por *Shigella* induce, además, a que comience la inflamación, permitiendo la presencia de grandes cantidades de polimorfonucleares. El constante influjo de polimorfonucleares destruye la integridad epitelial y hace posible la entrada de la bacteria más o menos constantemente. La infección puede extenderse a superficies más extensas por combinación de inflamación e invasión. En respuesta a la inflamación, las células epiteliales colónicas expresan un arribo de moléculas pre-inflamatorias, en particular quimioquinas, tales como IL-8, la cual agrava la inflamación local al atraer mayor número de polimorfonucleares; esta es una de las principales actividades de IL-8, curiosamente cuando se neutraliza la IL-8, decrece la severidad de las lesiones epiteliales, y permite a la bacteria invadir a la lámina propia.

Se ha demostrado que en los estadios primarios de la infección por *Shigella* disminuye la transcripción de interferón gamma, lo cual puede facilitar la multiplicación temprana del microorganismo. Los polimorfonucleares en la infección por *Shigella* desempeñan un papel principal; al contrario de los macrófagos, estos no llegan a la apoptosis, *Shigella* no escapa de las vacuolas fagocíticas en estas células. Atrapados en la vacuola, a pesar de su fenotipo invasivo, *Shigella* va hacia la muerte por radicales de oxígeno y proteínas antibacterianas tales como la proteína bactericida estimulante de la permeabilidad (BPI).

Por último CD14, un patrón de reconocimiento que participa en la activación del sistema de señales para las células fagocitarias en presencia de lipopolisacáridos, realiza una función importante en la resolución de la infección por *Shigella*. Cuando se neutraliza CD14, ocurre un sobrecrecimiento de este microorganismo en la mucosa. Esto sugiere que durante el proceso infeccioso los fagocitos utilizan el polisacárido bacteriano como una señal para aumentar la respuesta antibacteriana.

Cuadro clínico

La shigelosis o disentería bacilar tiene un período de incubación que varía desde menos de 12 horas hasta 4 días. Frecuentemente comienza con fiebre, dolor abdominal y diarreas líquidas. En estos momentos el cuadro es difícil de distinguir de la diarrea producida por cualquier otro patógeno entérico. Con posterioridad se hacen característicos los pujos, tenesmos y las heces mucopiosanguinolentas. A mayor virulencia de la cepa, más rápidamente aparece el cuadro disentérico. En individuos bien nutridos el cuadro desaparece sin tratamiento de 7 a 10 días después de haber comenzado; sin embargo, en los mal nutridos puede evolucionar a las formas persistentes por meses. Raramente se identifica este microorganismo fuera del tracto intestinal.

Las complicaciones que se pueden observar son: la deshidratación; en niños muy pequeños y mal nutridos, la sepsis con coagulación intravascular diseminada; en las infecciones por *S. dysenteriae* 1 y algunos serotipos de *S. flexneri*, el síndrome urémico hemolítico y la púrpura trombocitopénica trombótica. Otras complicaciones que pueden presentarse con menos frecuencia son: el prolapso rectal, el megacolon tóxico, colitis pseudomembranosa, hepatitis colestásica, conjuntivitis, iritis, úlceras corneales, artritis, síndrome de Reiter, cistitis, miocarditis y vaginitis.

Epidemiología

La shigelosis es de distribución mundial, y es más común en aquellos países donde hay una precaria higiene. Existe una relación entre los grupos de *Shigella* identificados y el desarrollo de los países. La *S. dysenteriae* y *S. boydii* se relacionan con países con condiciones higiénicas muy malas. Las infecciones por *S. sonnei* son las que más frecuentemente se diagnostican en los países desarrollados, seguidas de las producidas por *S. flexneri*. En Cuba, según Valdés-Dapena, el serogrupo más frecuente es el *sonnei* fase I, seguido de *S. flexneri* 2.

El hombre es tanto reservorio como hospedero natural de *Shigella*. La infección se contrae vía oral-fecal, siendo la forma más habitual de adquirir la enfermedad, la transmisión de persona a persona, debido a la baja dosis infectante. En los países en vías de desarrollo son frecuentes las epidemias por agua y alimentos contaminados, así como por la transmisión por las moscas.

El control de la enfermedad se hace mejorando las condiciones higiénico-sanitarias; se ha planteado el uso de vacunas para la prevención de la enfermedad, algunas han resultado efectivas, pero el uso sistemático de ellas no se ha establecido.

Tratamiento

El tratamiento se plantea que sea la restitución del equilibrio hidromineral; el uso de antibióticos no está aconsejado en todos los casos, pues se señala que es una infección autolimitada. La resistencia a los antimicrobianos varía según los países y regiones.

Diagnóstico de laboratorio

Muestras. Puede hacerse el estudio microbiológico por heces fecales recién emitidas, por hisopado rectal o por raspado de mucosa por rectosigmoidoscopia.

La identificación de *Shigella* se hace a partir de las muestras inoculadas directamente en medios diferenciales como el Mac Conkey agar y medios selectivos como el SS agar, XLD agar y Hektoen agar, así como la inoculación en medios de enriquecimientos como el medio de Silliker, pues el selenito inhibe el crecimiento de este patógeno, para su posterior siembra en los medios selectivos.

La diferenciación de las colonias seleccionadas se realiza a partir de las colonias no fermentadoras de la lactosa, las cuales se identifican por sus características fisiológicas sobre los sustratos y posteriormente se hace la diferenciación serológica utilizando sueros clasificadores de los antígenos O para su clasificación en serogrupos del A al D y de los serotipos que cada uno de estos grupos engloban.

Los estudios del ADN y PCR se aplican, preferiblemente, en la identificación de las toxinas.

Se han descrito métodos indirectos como la hemaglutinación pasiva para la determinación de anticuerpos, principalmente el diagnóstico de epidemias producidas por *S. dysenteriae* 1.

Salmonella

Salmonella es una de las enterobacterias que es causa importante de afectación en la salud del hombre. El primer microorganismo descrito en este género fue la *S. typhi* por Eberth en 1880 y Gaffky en 1884. Otros serotipos han sido descritos dentro de este género, hasta llegar en la actualidad a más de 2 300. La clasificación en serotipos se llevó a cabo por vez primera por Schuetze en 1920, pero no fue hasta 1929 que White realizó el trabajo que sentó las pautas para la clasificación serológica; Kauffman, en 1941, confirmó todo el trabajo efectuado con anterioridad y sistematizó la presente clasificación serológica del género.

La nomenclatura y clasificación de las bacterias que conforman este género se ha hallado en constante cambio; actualmente se considera que el género *Salmonella* está integrado por una sola especie, *Salmonella enterica*, dentro de la cual se encuentran todos los serotipos descritos. Basado en la hibridación del ADN y la electroforesis enzimática, *Salmonella enterica* se ha subdividido en siete grupos subespecíficos, perteneciendo la mayoría de las cepas que afectan a los humanos a la subespecie I. Los subgrupos son:

- Salmonella* 1 (*S. cholerae-suis*)
- Salmonella* 2 (*S. salamae*)
- Salmonella* 3A (*S. arizonae*)
- Salmonella* 3B (*S. diarizonae*)
- Salmonella* 4 (*S. houtenae*)

Salmonella 5 (*S. bongori*)
Salmonella 6 (*S. indica*)

Los nombres puestos entre paréntesis se refieren a la clasificación de Le Minor.

Características de los cultivos

En los medios de aislamiento primarios, ya sean diferenciales o selectivos, que contienen como sustrato de diferenciación la lactosa, las colonias de *Salmonella* se observan como no fermentadoras de este carbohidrato. La mayoría de las cepas son móviles, producen ácido y gas a partir de la glucosa, aunque algunas especies como *S. typhi* son anaerogénicas. Producen ácido y gas a partir del manitol, dulcitol y sorbitol. Raramente utilizan la lactosa en su metabolismo, la sacarosa, salicina o adonitol. La producción de indol es excepcional, no hidrolizan la urea ni deaminan la fenilalanina. La mayoría de los serotipos emplean el citrato como fuente de carbono, aunque algunos, como *S. typhi*, no lo utilizan; igualmente ocurre con la producción de H₂S. Casi nunca crecen en el medio KCN.

Estructura antigénica

La clasificación serológica de *Salmonella* se basa en los antígenos somáticos (O) y los flagelares (H), que son los que dan lugar a los 2 300 serotipos descritos hasta el momento.

El antígeno O está presente tanto en las cepas móviles como en las inmóviles, y son resistentes a 100 °C. Estos antígenos clasifican a *Salmonella* en grupos que van desde el grupo A hasta el H, seguidos de grupos denominados por números. Los serotipos más frecuentes se encuentran entre los grupos B, C1, C2, D y E, abarcando estos grupos el 95 % de las cepas aisladas. Dentro de cada grupo los antígenos O están representados por números arábigos y cada grupo tiene los antígenos propios de él, que se denominan *antígenos mayores*, y otros antígenos que son compartidos por otros grupos dentro del género. Por ejemplo, en el grupo C1 sus antígenos somáticos son el 6, 7; siendo el 7 el antígeno propio, pues el 6 lo comparte con el grupo C2, cuyos antígenos son el 6, 8. Los antígenos somáticos pueden tener variación S-R presentándose en los cultivos recientes las formas S (lisas) y R en las formas rugosas de los cultivos. Esta última forma puede interferir en las reacciones de aglutinación para la clasificación de la cepa.

El antígeno Vi es un antígeno somático de superficie que se relaciona con la virulencia de las cepas. Está presente en *S. typhi* y en *S. paratyphi* C. Este antígeno interfiere con la aglutinación de los antígenos de grupo y puede tener variación V-W. Las formas V (presencia de antígeno Vi) se observan en los cultivos recientes y las W, en aquellos que han perdido este antígeno.

El antígeno M se relaciona con la estructura más superficial del soma bacteriano, considerándose un antígeno de cubierta de *Salmonella*. La presencia de este antígeno le confiere una apariencia rugosa a la cepa e interfiere con la aglutinación de los antígenos O. Puede haber una variación M-N, siendo las formas N las formas no mucoides.

La clasificación en serotipos hay que hacerla basándose no solamente en los antígenos O, sino en los antígenos flagelares (H). Los antígenos flagelares pueden encontrarse en dos fases: fase 1 y fase 2. Cuando las cepas presentan las dos fases se denominan *bifásicas*, cuando sólo tienen una fase son *monofásicas*. Las cepas inmóviles como *S. gallinarum* y *S. pollorum* carecen de estos antígenos.

La fase 1 está representada por letras y la fase 2 por números arábigos o letras minúsculas. Existe una variación de fase de móvil a inmóvil cuando las cepas que poseen flagelos los pierden.

Patogenia

No obstante la clasificación actual desde el punto de vista del ADN de *Salmonella*, para las clasificaciones clínico-epidemiológicas es más usado el considerar el cuadro clínico que produce el serotipo infectante, de ahí que se dividan en tres clases:

1. *Salmonelas* que producen cuadros septicémicos (*S. cholerae-suis*).
2. *Salmonelas* que producen fiebres intestinales (*S. typhi* y *S. paratyphi* A, B y C.).
3. *Salmonelas* que producen cuadros gastroentéricos (resto de las salmonelas).

Después de entrar *Salmonella* por la vía oral y llegar al intestino delgado distal, se adhiere y penetra en las células epiteliales. *Salmonella* es ingerida por las células M en las placas de Peyer y subsecuentemente se extiende por la penetración a células epiteliales absortivas columnares adyacentes. Las salmonelas no tifoídicas que son las causantes de los cuadros gastroentéricos se limitan en su infección a la mucosa intestinal y nódulos linfáticos regionales, estimulando la actividad de PMNs, aunque en las edades extremas de la vida o en pacientes con compromiso de la inmunidad *Salmonella* puede atravesar la barrera intestinal.

Salmonella typhi, *S. paratyphi* A, B y C, y *S. cholerae-suis* son capaces de atravesar la barrera epitelial y entrar en el sistema reticuloendotelial, donde la bacteria entra y se multiplica dentro de los macrófagos fijos del hígado, bazo y ganglios linfáticos, y dentro de los macrófagos circulantes, dando lugar a una continua bacteriemia. En las fiebres intestinales, esta bacteriemia llega a la vesícula e intestino delgado nuevamente. El nuevo choque de la bacteria con los ganglios linfáticos y placas de Peyer origina hiperplasia y necrosis, y en casos muy severos provoca la hemorragia y perforación intestinal. *Salmonella* permanece en las vacuolas fagosomales de las células epiteliales, y no causan la destrucción masiva que se observa en la infección por *Shigella*.

La patogenia de *Salmonella* está relacionada con varios locus cromosomales.

Los genes implicados en la virulencia de *Salmonella* codifican las enzimas responsables de la biosíntesis de nutrientes que están escasos en los tejidos del hospedero, así como de los factores transcripcionales y postranscripcionales, proteínas necesarias para la reparación de los daños del ADN y de otros productos que se necesitan para la defensa de la bacteria contra los mecanismos antimicrobianos del hospedero.

Hasta el momento se han identificado cinco islas y varios islotes de patogenicidad en *Salmonella enterica*, el mejor estudiado de todos es el SPI-1, el cual codifica los genes que capacitan a la bacteria para invadir a células no fagocíticas SPI-1, pues contiene los 31 genes que codifican los componentes del sistema III secretor (Inv/Spa), las proteínas secretadas por este sistema y los efectores de chaperoneo, los factores reguladores transcripcionales y otras proteínas de función desconocida. Este aparato es el encargado de enviar las proteínas dentro del citosol de la célula eucariótica. Además, el sistema Inv/Spa se relaciona con la apoptosis *in vitro*. Se plantea que este sistema no se requiere en la infección sistémica, sino que su principal función se relaciona con la entrada de la bacteria al intestino del hospedero afectado.

La organización de los genes que codifican el sistema III secretor es muy similar al responsable de la invasión de la célula eucariótica y la apoptosis llevada a cabo por *Shigella*.

Una de las principales propiedades del sistema Inv/Spa en *Salmonella* es su capacidad para translocar proteínas efectoras fuera del SPI-1 de la isla de patogenicidad.

Salmonella es la única bacteria gramnegativa que tiene dos sistemas secretores distintos tipo III, cada uno se corresponde con diferentes estadios del proceso infeccioso.

El segundo sistema secretor tipo III (Spi/Ssa) está codificado dentro de la isla de patogenicidad SPI-2 y difiere del sistema Inv/Spa en organización genética, distribución filogenética y función, ya que Spi/Ssa es imprescindible para causar enfermedad sistémica y las mutantes que carecen de él tienen atenuada su capacidad para producir esta forma de la enfermedad.

Una de las proteínas secretadas por el sistema Spi/Ssa, la SpiC, inhibe la fusión de *Salmonella* dentro de los fagosomas a los lisosomas y, por lo tanto, permite el crecimiento dentro de los macrófagos.

La isla de patogenicidad SPI-1 es ancestral a *Salmonella* y está presente en todas las subespecies de *S. enterica*, sin embargo, el SPI-2 no ha sido detectado en la mayoría de los subgrupos, lo que sugiere que fue adquirido posteriormente en la evolución de *Salmonella*, confiriéndole la capacidad de producir enfermedad sistémica.

Otra isla de patogenicidad en *Salmonella* es SPI-3, la cual tiene una estructura de mosaico y codifica para las proteínas de sobrevivencia en los macrófagos y las proteínas de

unión de la membrana. Actualmente se han descrito la isla SPI-4 y SPI-5, la primera se requiere para la sobrevivencia dentro de los macrófagos y la SPI-5 no se necesita para la enfermedad sistémica.

No todas las islas de patogenicidad son grandes regiones que codifican para varios genes o funciones de alta complejidad, hay otras que son genes *Salmonella* específicos como los que se requieren para la formación de estructuras filamentosas en las vacuolas lisosomales de las células epiteliales infectadas.

Cuadro clínico

La infección por *Salmonella* en el hombre puede presentarse de diversas formas clínicas, las cuales incluyen tanto las formas intestinales autolimitadas como las de localización extraintestinal.

Se definen como cuadros gastroentéricos los producidos por la mayoría de los serotipos de *S. enterica*, excepto los que a continuación se especifican: la forma septicémica (*S. cholerae-suis*) y las fiebres intestinales, donde se incluye la fiebre tifoidea (*S. typhi*), *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B* y *S. paratyphi C*.

La mayoría de las salmonelosis son de origen animal, exceptuando la fiebre tifoidea, y las fiebres paratíficas cuyo único reservorio es el hombre.

Los cuadros más comunes son los de enterocolitis no complicadas, donde después de haber ingerido agua, alimentos contaminados o por medio de manos contaminadas entra *Salmonella* en el hospedero susceptible y después de 8 a 48 horas de incubación aparecen los síntomas: náuseas, vómitos, cólicos, diarreas y fiebre. En los neonatos, inmunodeprimidos o pacientes con otra enfermedad de base, pueden darse cuadros graves que, incluso, lleven al paciente a la muerte. En la mayoría de los países, *Salmonella* es una de las principales causas de intoxicación alimentaria. Algunas cepas de *Salmonella* que han adquirido los factores de virulencia anteriormente relacionados, pueden pasar a la sangre y dar lugar a siembras a distancia como en el Sistema Nervioso Central, huesos, entre otros.

Los pacientes infectados por serotipos de *Salmonella* causantes de enfermedad gastroentérica, después de curados pueden estar excretando *salmonelas* por semanas o meses.

El síndrome de las fiebres intestinales se caracteriza por fiebre, dolor de cabeza y postración. Entre los agentes causales de estos cuadros, los más graves se relacionan con *S. typhi*, ya que es el más prolongado, causa mayor número de muertes y puede presentar graves complicaciones como sangramientos, hemorragias y perforaciones, así como producir siembras a distancia.

Aunque cualquier serotipo de *Salmonella* puede producir bacteriemia, el que más frecuentemente se caracteriza por ello es *S. cholerae-suis*.

En los casos donde se produce bacteriemia, la siembra puede ocurrir en cualquier órgano, siendo de los más frecuentes el Sistema Nervioso Central, hueso, pulmón y riñón.

Tratamiento

El tratamiento depende del cuadro clínico; en las manifestaciones gastroentéricas autolimitadas es sintomático, por lo que se deja el uso de antibióticos para los casos complicados, donde haya ocurrido diseminación bacteriana. No ocurre así en las formas de septicemias y fiebres intestinales, en las cuales el tratamiento con antibióticos es requerido.

La resistencia a las drogas ha aumentado en *Salmonella*, encontrándose entre sus causas, además del uso indiscriminado de los antibióticos en los humanos, el uso de estos productos en la comida destinada a los animales.

Epidemiología

La fuente más frecuente de los humanos adquirir la salmonelosis (serotipos gastroentéricos), es por medio de la ingestión de alimentos y aguas contaminadas. Los

pollos y los derivados cárnicos son la fuente más común de infección. La infección de persona a persona o de animal a persona es menos habitual, aunque en hospitales y unidades cerradas se han descrito epidemias por esta vía, principalmente entre los neonatos y personas con otras enfermedades de base que comprometen el sistema inmune.

La infección por *S. typhi* es señal del contacto con heces humanas contaminadas por este microorganismo, ya que el hombre es su único reservorio.

Cada país tiene su propio esquema de circulación de serotipos; en nuestro medio, los serotipos que más frecuentemente circulan son, en las enfermedades gastrointestinales: *S. enteritidis*, *S. agona* y *S. anatum*; en las infecciones extraintestinales los serotipos que priman son: *S. enteritidis*, *S. namibia* y *S. infantis*.

El conocimiento de los serotipos circulantes es un importante marcador epidemiológico, como lo es el fagotipaje para la *S. typhi*. En algunos países donde prima el serotipo *S. typhimurium* es frecuente el uso del fagotipaje para este serotipo.

El control de la salmonelosis se basa en las medidas higiénico-sanitarias, así como en el control de los alimentos tanto de los humanos como de aquellos suministrados a aves u otros animales de consumo por el hombre.

En la fiebre tifoidea, el control, además de hacerse sobre las condiciones higiénico-sanitarias, debe realizarse sobre el portador, que es el reservorio de la bacteria causante de la enfermedad. La vacunación para la prevención de esta enfermedad no se efectúa sistemáticamente, y sólo se recomienda en aquellas ocasiones donde hay una fuerte exposición al microorganismo, en zonas de alta endemia, o donde las condiciones higiénico-sanitarias sean inadecuadas.

Diagnóstico de laboratorio

Muestras útiles para el diagnóstico. En el diagnóstico microbiológico de *Salmonella*, la muestra que se va a estudiar depende del cuadro clínico que presente el paciente.

En los cuadros gastrointestinales, la muestra útil son las heces fecales recién emitidas y enviadas de inmediato al laboratorio para su procesamiento.

En los síndromes febriles donde se plantea una bacteriemia, se debe indicar un hemocultivo previo al uso del tratamiento y hacerse este en el período anterior al pico febril.

En las localizaciones extraintestinales, las muestras que se van a utilizar dependen de la posible localización, pudiendo ser estas líquido cefalorraquídeo, muestras de pus, orina, entre otras.

En el diagnóstico de fiebre tifoidea es muy importante la indicación adecuada en el momento preciso, pues por las características patogénicas de este microorganismo, la bacteria tiene localizaciones precisas según el estadio de la enfermedad. En la primera semana, la muestra útil es el hemocultivo; en la segunda semana puede hacerse el aislamiento en el medulocultivo o en el urocultivo; ya en la tercera semana sólo es posible su aislamiento en las heces fecales o en el estudio de la bilis.

En el diagnóstico de portadores de *S. typhi*, las muestras utilizadas son heces fecales previo uso de sales biliares o sulfato de magnesio y bilis y orina cuando se plantee un portador renal. El suero de pacientes se puede utilizar para la aplicación de métodos indirectos que serán descritos más adelante.

En las intoxicaciones alimentarias, el estudio de la muestra testigo es imprescindible para el diagnóstico de salmonelosis.

Medios y métodos. Las muestras de productos patológicos que no sean heces fecales, se siembran en caldo cerebro-corazón si es sangre para hemocultivo o médula para medulocultivo, y en placas de agar-sangre si es cualquier otra muestra procedente de una localización extraintestinal, incluyendo la muestra de orina para la realización de urocultivo cualitativo.

Para el diagnóstico de *Salmonella* en heces fecales debe utilizarse dos medios selectivos, además del enriquecimiento. Se realizan siembras directas de heces fecales y resiembras a partir de los medios de enriquecimiento. El selenito F es el medio de enriquecimiento que con mayor frecuencia se emplea, aunque también son utilizados el caldo de tetracionato y el caldo de tetracionato con verde brillante. Este último no debe usarse para la búsqueda de *S. typhi*, pues inhibe a este microorganismo.

Para la siembra directa y las resiembras a partir de los enriquecimientos, se recomienda utilizar más de un medio selectivo, entre éstos se hallan: el SS agar, XLD agar, desoxicolato agar, Hektoen agar y agar verde brillante. En la siembra directa también puede emplearse el Mac Conkey agar. Siempre es recomendable usar un medio medianamente inhibidor y otro altamente inhibidor.

Para el aislamiento de *S. typhi* se recomienda el uso del bismuto sulfito agar como medio selectivo.

Todos los medios deben incubarse a 37°C por 18 a 24 horas, a partir de los cuales se hará la selección de las colonias.

En el agar-sangre no existe diferenciación entre las colonias de *Salmonella* y otras enterobacterias; en los medios diferenciales que contienen lactosa e indicador de Taylor (H₂S), estas se muestran casi siempre como no fermentadoras de este carbohidrato; aunque debe considerarse siempre la existencia de biotipos que la fermentan, la presencia de H₂S se detectará en dependencia del biotipo.

Las colonias seleccionadas como posible *Salmonella* se sembrarán en medios diferenciales como el agar Kligler-hierro, o agar lisina hierro, y sus imágenes se estudiarán fisiológicamente utilizando los distintos sustratos, tanto por los métodos convencionales como por los métodos codificados. Posteriormente se determinará el grupo de *Salmonella*. El serotipaje de la cepa se realizará en los laboratorios de referencia.

Están descritos métodos indirectos como la reacción de Widal para determinar anticuerpos contra las estructuras somáticas y flagelares de *S. typhi*. Este método no es recomendado debido a que las estructuras antigénicas de los distintos grupos y serotipos de *Salmonella* se comparten entre todos los miembros del género y puede dar lugar a resultados falsos positivos.

La hemaglutinación pasiva Vi se utiliza para detectar portadores de *S. typhi* basándose en que este antígeno sólo lo tienen *S. typhi* y *S. paratyphi C*, y esta última circula escasamente; en nuestro país no se ha detectado su circulación. Títulos de más de 1:40 se dan como posible portador, por lo que se debe pasar en los casos positivos a la búsqueda de *S. typhi* por aislamiento. Esta prueba tiene utilidad, principalmente, en la búsqueda masiva de este microorganismo.

Yersinia

Dentro de la familia *Enterobacteriaceae* están comprendidas las 11 especies de *Yersinia* que han sido aisladas a partir de muestras clínicas.

No existen dudas en tres de estas especies y su relación con enfermedad en el hombre. Estas especies son: *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pestis* y *Yersinia pseudotuberculosis*. Las enfermedades causadas por cualquiera de estas especies se consideran infecciones zoonóticas que con frecuencia afectan a roedores, pájaros y otros animales, siendo el hombre un hospedero accidental. *Y. pestis* (agente causal de la peste) y *Y. pseudotuberculosis* (agente causal de adenitis mesentérica), son raramente identificadas y en nuestro país no hay aislamientos reportados.

Por el contrario, *Y. enterocolitica* en las últimas dos décadas ha sido reportada como importante causa de enteritis y enfermedad diarreica. Fue descrita por vez primera en 1939 en los Estados Unidos de América, pero no fue hasta la década del 60 que se comenzó a reportar, utilizándose diversas nomenclaturas para nombrarla, entre ellas: *Pasteurella pseudotuberculosis-like*, *Pasteurella pseudotuberculosis* tipo B, *Pasteurella X*, *Pasteurella Y* y germen X. Freideiken, en 1964, propuso el nombre de *Y. enterocolitica*.

En la actualidad se describen siete especies dentro de *Y. enterocolitica*, basándose en su comportamiento bioquímico atípico: *Y. aldovae*, *Y. bercovieri*, *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia*, *Y. mollaretti*, *Y. kristensenii*, *Y. rohdei* y *Y. ruckeri* (no ha sido reportada en infecciones humanas).

Características de los cultivos

Desde el punto de vista de clasificación por homología del ADN, *Yersinia* está comprendida dentro de la familia *Enterobacteriaceae*; morfológicamente se caracterizan por ser

bacilos gramnegativos, de coloración bipolar, muy pequeños, cocobacilares y pleomórficos, principalmente esta última característica se observa en *Y. pestis*, así como la forma de alfiler de seguridad en *Y. pseudotuberculosis*. En las extensiones obtenidas de lesiones y en medios de cultivo especiales, se puede apreciar en *Y. pestis* una gran cápsula.

Yersinia crece lo mismo en agar-sangre, agar-nutriente o Mac Conkey agar; las colonias son pequeñas, puntiformes. *Y. pseudotuberculosis* y *Y. pestis* se semejan en su crecimiento, aunque *Y. pseudotuberculosis* se desarrolla más rápidamente que *Y. pestis*. Ambas especies crecen a 37°C.

Yersinia enterocolitica, a diferencia de otras enterobacterias, crece mejor a 25 °C; en medios universales se observa como colonias muy pequeñas, translúcidas y lisas. En los medios diferenciales y selectivos utilizados para el recobrado de enterobacterias, se aprecian colonias no fermentadoras de la lactosa, muy pequeñas. Los medios más efectivos para su aislamiento son el SS agar modificado y el CIN agar (cefsulodina-irgasan-novobiocina). El enriquecimiento en frío a 4°C aumenta la posibilidad de aislamiento, utilizándose para este fin solución salina fosfatada buferada. Los subcultivos en los medios selectivos deben hacerse a partir de los enriquecimientos hasta 21 días después de su inoculación.

Algunas características del género *Yersinia* son:

En el medio de Kligler se observa la fermentación de la glucosa sin producción de gas, ni H₂S. Móviles de 22 a 25°C e inmóviles a 35°C. No producen indol, ni decarboxilan la lisina, así como tampoco utilizan el citrato como fuente de carbono. El rojo de metilo es positivo y *Y. enterocolitica* emplea la sacarosa en su metabolismo.

Estructura antigénica

Antigénicamente todos los miembros del grupo están relacionados.

Yersinia pestis (bacilo de la plaga) posee dos antígenos, uno se corresponde con la cápsula y el otro con el soma bacteriano. Ambos se encuentran presentes tanto en cepas virulentas como avirulentas, aunque se han descrito cepas donde el antígeno capsular está ausente. Se han descrito 20 serotipos en *Y. pestis*. Los antígenos V-W presentes en *Y. pestis* son, a su vez, factores de virulencia y antifagocitarios. La clasificación en serotipos de *Y. enterocolitica* y *Y. pseudotuberculosis* se basa en los antígenos O y H, lo cual da lugar a 34 serotipos de *Y. enterocolitica* y seis serotipos de *Y. pseudotuberculosis*.

Yersinia enterocolitica presenta diferentes biotipos; basado en su comportamiento sobre los sustratos, se han propuesto por Niléhn y Wauters cinco biotipos, uno para la cepa tipo y cuatro para cepas atípicas, siendo dos de las cepas atípicas sacarosa negativa y dos rhamnosa positiva.

Los serotipos más frecuentemente identificados en *Y. enterocolitica* son el 03; 08 y 09. El 08 es el más observado en América del Norte y el 03 y 09, en Europa.

Patogenia

La enfermedad producida por *Y. enterocolitica* es variada y depende de la edad y las condiciones físicas del paciente afectado. Al igual que *Y. pseudotuberculosis*, penetra por vía oral a través de alimentos, aguas contaminadas y llega hasta las células epiteliales columnares que revisten el lumen del intestino delgado. Después son transportados a la lámina propia donde dan lugar a una respuesta inflamatoria que puede presentarse como una gastroenteritis o una linfadenitis mesentérica. En esta zona ocurre el englobamiento por los macrófagos, donde sobreviven dentro de los fagolisosomas de estos, no así en los polimorfonucleares. *Y. enterocolitica* no sobrepasa la barrera intestinal, por lo cual permanece la infección a este nivel sin llegar a producir invasión del torrente circulatorio.

Los determinantes de virulencia en *Yersinia* son compartidos por las tres especies, entre estos están: un plásmido de 70 a 75 kDa que codifica alrededor de 10 proteínas y es el responsable de la virulencia de las cepas (antígeno V), así como de las proteínas de la membrana externa de *Yersinia* (YOP). El factor de virulencia V actúa muy al comienzo de la infección y es el responsable de que *Yersinia* permanezca en el bazo e hígado. El antígeno V

parece desempeñar un papel en la regulación de su propia expresión y en la expresión de algunas de las proteínas de la membrana externa.

El gen *yopA* codifica para las adhesinas fimbriales P1, que participan en la colonización del intestino por esta bacteria y en la inhibición de la actividad bactericida mediada por el complemento. Las proteínas YOPE y YOPH parecen ser importantes en el bloqueo de la fagocitosis. Las proteínas YOPH se han descrito como reguladoras de la multiplicación celular. La YOPN participa en la regulación de la síntesis de YOP cuando los niveles de Ca^{2+} están elevados. La proteína YOPM impide la agregación plaquetaria y, por lo tanto, inhibe los mediadores de la inflamación.

Yersinia enterocolitica presenta una enterotoxina termoestable que es codificada cromosómicamente. Los genes cromosómicos *inv* y *ail* tienen una importante participación en la invasión celular, estando estos últimos solamente presentes en las cepas virulentas.

Cuadro clínico

Yersinia enterocolitica es considerada como una de las principales causas de diarreas en América del Norte, y muy especialmente en los países de Europa Central y del norte de Europa. Se caracteriza por producir diarreas que pueden ser líquidas o mucoides con la presencia de leucocitos en las heces fecales; las diarreas se presentan después de 3 a 7 días de contacto con el microorganismo y se acompañan de fiebre alta que puede llegar hasta 40°C. También se puede presentar con dolor abdominal; en ocasiones la fiebre y el dolor son los únicos signos que muestra la enfermedad, semejando un cuadro apendicular.

En adultos y niños mayores, la enfermedad casi siempre es autolimitada, aunque en los lactantes se puede observar la bacteriemia.

Entre las complicaciones que se presentan, la más frecuente es la artritis reactiva. Otras complicaciones observadas son: el eritema nudoso, la meningitis, la neumonía, el absceso hepático, la anemia hemolítica y la trombocitopenia.

Tratamiento

El tratamiento con antibioticoterapia no es necesario en los cuadros que se presentan autolimitados a las formas de diarrea. En los casos donde hay diseminación hematogena y siembra en otros órganos, se ha recomendado el uso de aminoglucósidos unidos a cefalosporinas de tercera generación, las fluoroquinolonas, la rifampicina y el trimetoprim-sulfametoxazol. Sin embargo, el uso de amoxicilina y la bencilpenicilina no han arrojado buenos resultados.

Epidemiología

Yersinia enterocolitica se identifica, principalmente, como causa de enfermedad en los países fríos o templados, describiéndose más frecuentemente durante el invierno en Europa; en los Estados Unidos de Norteamérica se han descrito picos en los meses de verano. En nuestro país, Valdés-Dapena, en un estudio de 7 292 muestras procedentes de niños con diarrea, no obtuvo el aislamiento del microorganismo.

El reservorio de *Y. enterocolitica* son los animales, siendo el puerco uno de los principales reservorios.

La fuente de infección puede ser diversa y las infecciones y los brotes intrahospitalarios por contacto directo con personas enfermas han sido descritos, aunque las infecciones más frecuentes son las adquiridas por aguas y alimentos contaminados o por el contacto directo con animales.

Yersinia enterocolitica puede ser transmitida mientras se mantengan los síntomas, así como permanecer algunos de los individuos enfermos como portadores sanos.

La enfermedad se presenta a cualquier edad y sexo, pero es más frecuente en niños y adolescentes.

Diagnóstico de laboratorio

Yersinia enterocolitica es una de las enterobacterias patógenas de mayor dificultad para ser identificada por los requerimientos que son necesarios para su aislamiento.

La muestra que se utilizará son heces fecales recién emitidas.

La búsqueda de polimorfonucleares en heces es uno de los métodos diagnósticos que pueden sugerirnos la presencia de una bacteria invasiva como causa de diarrea y, por lo tanto, es de utilidad su uso en el diagnóstico.

El cultivo de las heces fecales es el diagnóstico definitivo y confirmatorio del microorganismo. Debe de realizarse la siembra primaria en medios de enriquecimiento como los ya descritos anteriormente e incubar a bajas temperaturas hasta 21 días, así como en medios diferenciales y selectivos también señalados, los cuales permanecerán por 48 horas a temperatura de 25 °C. Las resiembras deben de hacerse en medios selectivos como el SS modificado y el CIN agar, cuyas placas serán incubadas en las condiciones anteriormente explicadas. La selección de colonias se hace en búsqueda de colonias muy pequeñas, no fermentadoras de la lactosa, las que se inoculan en el medio de Kligler-hierro agar, presentando después de 24 horas de incubación a 37 °C igual imagen a la de *Shigella*. A partir de los cultivos que muestran esta imagen, se debe de estudiar su acción sobre la fenilalanina, citrato, urea, así como observar su motilidad a 37 y 25 °C.

La respuesta ante los sustratos enfrentados es la siguiente: la deaminación de la urea está presente en el 90,7 % de las cepas; la fenilalanina es negativa en el 100 % de las cepas, al igual que el citrato que no es utilizado como fuente de carbono en el 100 % de las cepas. La motilidad es positiva a 25 °C y negativa a 37 °C. Con posterioridad se termina la clasificación con los estudios serológicos de aglutinación en lámina para la separación en serotipos según los antígenos O y H. Estos estudios sólo se hacen en los laboratorios de referencia, pues habitualmente los laboratorios clínicos no cuentan con los sueros clasificadores; y el estudio fisiológico de las cepas, en los diferentes carbohidratos, para la definición de los biotipos según lo antes señalado en el acápite de las características de cultivo. Se han descrito varios esquemas para la determinación de los fagotipos, pero, al igual que en los serotipos, sólo se hace en laboratorios de referencia.

El serodiagnóstico puede realizarse para determinar los niveles de anticuerpo contra *Y. enterocolitica* aplicando estas técnicas, principalmente, en aquellos cuadros clínicos que se corresponden con el origen de ellos por la presencia de inmunocomplejos.

Se cuenta con métodos comerciales para la determinación de anticuerpos por microaglutinación, así como para determinar anticuerpos fijadores del complemento.

INFECCIONES EXTRAINTESTINALES

En las infecciones extraintestinales ocasionadas por los distintos géneros de *Enterobacteriaceae*, debemos tener en cuenta las infecciones que se producen por enterobacterias que son patógenas primarias, como son: *S. typhi*; *S. paratyphi* A, B y C, y *S. cholerae-suis* ya descritas en *Salmonella*; *Y. pestis* y *Y. pseudotuberculosis*, así como las que se originan por enterobacterias consideradas parte de la flora normal del intestino, las cuales actúan como patógenas fuera de esta localización.

Infecciones primarias

Yersinia pestis

Es el agente causal de uno de los azotes mayores de la humanidad: la peste. Las grandes epidemias ocurridas desde el año 542 d.C. han sido exterminio de grandes poblaciones, y han dado lugar a grandes pandemias, siendo la última a principios del siglo xx, la cual afectó a casi todos los continentes, incluyendo a América.

Las características generales y de cultivo de este microorganismo ya han sido descritas en *Yersinia*.

Patogenia

Los mismos factores señalados en *Y. enterocolitica* son los que participan en la aparición de la enfermedad producida por *Y. pestis*; a los anteriores ya descritos en la especie *Y. pestis*, se añaden un plásmido de 70 kDa relacionado con la virulencia, uno de 110 kDa de desconocida función en la virulencia, y otro muy pequeño de 9,5 kDa que se relaciona, además, con la producción de la pesticina (que es una bacteriocina) y con la inmunidad a esta, la actividad coagulasa y la producción de un activador del plaminógeno. Estos productos codificados por plásmidos son los responsables de la diseminación fulminante de la bacteria y la coagulación vascular diseminada característica en la peste.

Cuadro clínico

La peste se caracteriza por presentar tres formas clínicas: la bubónica, la septicémica y la neumónica.

La forma *bubónica* comienza con la toma de los ganglios linfáticos de la zona donde ocurrió la picadura por la pulga infectada. Los síntomas aparecen de 2 a 6 días después del contacto con el microorganismo. Los ganglios son dolorosos y pueden llegar a la supuración. El cuadro se acompaña de fiebre y es posible la diseminación a otros órganos, dando lugar a la forma *septicémica*. A consecuencia de la toma pulmonar puede aparecer la forma neumónica, que logra transmitirse de persona a persona por medio de microgotas y dar origen a la peste faríngea o peste neumónica primaria, la cual es una de las fuentes más peligrosas, pues ocasiona epidemias devastadoras. La peste neumónica y la septicémica casi siempre evolucionan hacia la muerte; en la actualidad, la forma bubónica puede ir hacia la curación con tratamiento adecuado. Una evolución similar alcanzan la forma septicémica y neumónica cuando se implanta tratamiento en etapas muy tempranas de la enfermedad.

Los antibióticos utilizados en el tratamiento son: en la forma bubónica, la estreptomycin intramuscular; en las formas septicémicas, el cloranfenicol intravenoso. En los contactos se recomienda el uso de tetraciclina o trimetoprim-sulfametoxazol.

Epidemiología

El microorganismo se mantiene en la naturaleza en los reservorios animales, siendo los roedores salvajes los principales reservorios. La enfermedad se transmite a través de la picadura de las pulgas infectadas que pueden permanecer en esta condición durante días, semanas o meses, siempre que las condiciones ambientales les sean propicias.

La peste sigue siendo un problema de salud en diversas áreas del mundo como son: los Estados Unidos de Norteamérica, América del Sur, África, Asia y los diversos países que conformaban la antigua Unión Soviética.

El control de la enfermedad se realiza evitando las picaduras por pulgas, controlando la presencia de estas y mediante la vigilancia de los roedores y los pacientes que sufren la enfermedad.

La inmunización es utilizada en personas que viven o viajan hacia zonas de alta incidencia, así como en el personal de los laboratorios que trabaja con *Y. pestis*.

Diagnóstico de laboratorio

Los productos patológicos para utilizar pueden ser: sangre, pus, esputo, líquido cefalorraquídeo y aspiraciones de ganglios.

El examen directo es de alto valor diagnóstico, aplicándose la coloración de Gram, Giemsa o Wayson se puede observar la morfología típica del bacilo en forma de alfiler. Puede utilizarse la inmunofluorescencia, que da un diagnóstico rápido y específico.

Los cultivos deben realizarse en los medios universales donde se obtendrán las colonias puntiformes descritas anteriormente. Los microorganismos se identificarán por métodos de coloraciones, inmunofluorescencia, reacciones bioquímicas y posteriormente se hará

el estudio serológico de las cepas con anticuerpos específicos, así como la lisis por bacteriófago. Al hacerse inoculaciones al cobayo y el ratón, se observan lesiones características y muerte de este último.

Las pruebas para determinar anticuerpos circulantes son sólo de valor retrospectivo, en pacientes donde exista la duda de la enfermedad.

Yersinia pseudotuberculosis

Comparte las mismas características morfológicas, de cultivo y antigénicas del género, ya descritas con anterioridad. Se conocen seis serotipos y la clasificación está basada en los antígenos O y H.

Patogenia

Los factores de virulencia y la adquisición de la enfermedad son muy parecidos a los producidos por *Y. enterocolitica*, pero las infecciones producidas por esta bacteria son mucho menos frecuentes, siendo más comunes en los países del norte de Europa.

El hombre adquiere la enfermedad por ingestión de carne infectada poco cocinada, alimentos que están contaminados por excretas de animales o por el contacto directo con animales infectados.

Después de 3 a 10 días de entrar el hombre en contacto con el microorganismo, se manifiesta la enfermedad, que ocurre por todos los mecanismos explicados en *Y. enterocolitica*, y se produce la toma de los ganglios mesentéricos.

Cuadro clínico

La enfermedad se manifiesta como un síndrome doloroso abdominal, con presencia de fiebre, que semeja un cuadro apendicular; raramente se produce el cuadro de enterocolitis.

Epidemiología

Los principales reservorios en la naturaleza son los animales, aves y mamíferos; el hombre constituye un hospedero accidental. La enfermedad puede presentarse a cualquier edad, aunque es más frecuente en adolescentes masculinos.

El control de la enfermedad se hace sobre el consumo de alimentos, los cuales deben estar adecuadamente cocinados; al evitar el contacto directo con animales que puedan ser fuente de infección y manteniendo medidas higiénico-sanitarias adecuadas. No existe vacunación.

En el tratamiento, los antibióticos utilizados pueden ser: ampicilina, cloranfenicol, tetraciclinas y aminoglucósidos.

Diagnóstico de laboratorio

La muestra útil para estudiar es el ganglio, el cual se cultiva en los medios convencionales, siguiendo los mismos métodos que los descritos para *Y. enterocolitica*; a partir de los aislamientos se realizan los estudios fisiológicos y serológicos para la caracterización de las cepas.

El diagnóstico serológico se puede hacer detectando anticuerpos por los métodos de inmunoensayo enzimático (ELISA), aglutinación o hemaglutinación en los primeros estadios de la enfermedad, pues estos anticuerpos desaparecen de 1 a 4 meses después de establecerse esta.

Infecciones por enterobacterias oportunistas

E. coli como causa de infecciones extraintestinales

Esta bacteria, principal representante de la flora bacteriana normal del intestino del hombre y los animales, es, a su vez, la enterobacteria que más frecuentemente se identifica como causa de infecciones extraintestinales, incluyendo en estas aquellas que son de origen nosocomial, las de origen comunitario, las que son producto de la translocación de la bacteria a otras zonas o las que se adquieren, como en los neonatos, al pasar el feto por el canal del parto, o las que se adquieren intraútero.

Entre las infecciones más frecuentes están las infecciones del tracto urinario, donde más del 95 % de ellas son causadas por esta bacteria.

Cualquier órgano o zona del cuerpo puede infectarse con *E. coli*. En las localizaciones de esta bacteria en zonas estériles, como son: el Sistema Nervioso Central, sangre o pulmón, entre otras, su presencia debe considerarse como causa de infección. En las zonas expuestas como el conducto auditivo, la conjuntiva y otras mucosas, al poder estar presente *E. coli* como parte de la flora normal, la interpretación debe hacerse basada en los resultados de cultivos cuantitativos, siendo 1+ y 2+ interpretados como colonización y más de estos, 3+ y 4+ como infección.

El poder patógeno de *E. coli* y su virulencia para producir infección extraintestinal están dados por la presencia de los factores de virulencia presentes en cada cepa. Entre estos factores se encuentran las adhesinas o factores de colonización, siendo las fimbrias P el factor más importante de colonización entre estas estructuras. Otros factores de colonización fimbriales son las fimbrias S y las fimbrias tipo 1 (F1A), así como la fimbria 1C (F1C). Otro factor que se comporta como una adhesina son las hemaglutininas Dr.

Algunas toxinas expresadas por *E. coli* son también factores de virulencia en infecciones extraintestinales, entre estas se encuentran la α -hemolisina y los factores necrotizantes (CNF1) y (CNF2). La cantidad de antígeno K presente en *E. coli* es otro elemento importante en la virulencia, siendo el K1 el que desempeña un papel más prominente, pues protege la bacteria contra la fagocitosis y el poder bactericida del complemento.

Se ha detectado la presencia de la colicina V (col. V) en cepas aisladas a partir de bacteriemia, esta colicina aumenta la virulencia de cepas K1+. Otro factor de virulencia descrito en cepas de *E. coli* causantes de infecciones extraintestinales es la aerobactina, codificada por el mismo plásmido que codifica para la colicina V.

Otros géneros de *Enterobacteriaceae* que pueden relacionarse con infecciones con las mismas características que las señaladas en *E. coli* son: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* (grupos KES). Dentro del género *Enterobacter*, las especies que más frecuentemente se relacionan con infecciones comunitarias o nosocomiales son: *E. aerogenes* y *E. cloacae*. *E. agglomerans* (actualmente *Pantoea agglomerans*) se identifica con alguna frecuencia, sin embargo, *E. sakazakii* es infrecuente su aislamiento, pero produce infecciones mortales en los neonatos. Otras especies dentro del género, de menor importancia clínica, son: *E. amnigenous*, *E. gergoviae* y *E. taylora*.

Klebsiella es fácilmente reconocida en los cultivos por su característica mucóide.

Klebsiella pneumoniae es la especie más comúnmente identificada a partir de muestras clínicas, abarcando alrededor del 95 % de los aislamientos. *K. oxytoca* es la otra especie que le sigue en frecuencia de aislamientos. Estas especies son causa habitual de infecciones nosocomiales y desempeñan un importante papel en brotes de infecciones adquiridas en unidades de cuidados intensivos neonatales.

Klebsiella ozaenae y *K. rhinoscleromatis* producen lesiones nasales aunque son infrecuentes, siendo en los países tropicales donde más se identifican como causa de enfermedad. *K. planticola*, *K. terrigena*, *K. ornithinolytica* son raramente identificadas en muestras clínicas.

Entre los mecanismos que tiene *Klebsiella* para producir infección, se encuentran los receptores de pared de la célula bacteriana que permiten la unión de la bacteria a la superficie de las células del hospedero, así como la protegen de la fagocitosis. Otro factor es la gran cápsula que presentan estas cepas, la cual las protege de la fagocitosis e interfiere con la respuesta inmune. Los antígenos capsulares K1 y K2 son los que se asocian a la virulencia

de las cepas y las que poseen estos antígenos se encuentran en localizaciones extraintestinales. El polisacárido que conforma el antígeno O de la endotoxina de la membrana externa inhibe la acción del complemento sérico. Otro factor de virulencia es un plásmido de 180 kDa que codifica para la aerobactina y los genes para el fenotipo mucoso característicos de las cepas virulentas. Otros plásmidos codifican para los determinantes R en las cepas multirresistentes, las cuales desempeñan un importante papel en las epidemias de origen nosocomial.

Serratia marcescens es causa de infección intrahospitalaria frecuente; las otras especies de *Serratia*, *S. ficaria*, *S. fonticola*, *S. liquefaciens*, *S. odorifera* y *S. plymuthica*, son raramente identificadas como causa de enfermedad.

El género *Citrobacter* comprende tres especies: *C. freundii*, *C. diversus* y *C. amalonaticus*, este último poco identificado en muestras extraintestinales.

Edwardsiella tarda es la única especie del género *Edwardsiella* reconocida como patógeno humano hasta muy recientemente; en la actualidad se reconocen otras especies como *E. hoshinae*, *E. ictaluri* y *E. tarda* biogrupo 1, pero estas rara vez se identifican como causa de enfermedad.

Hafnia alvei es considerada la única especie del género *Hafnia*, desde el punto de vista bioquímico se semeja a *Enterobacter* y en ocasiones se halla produciendo infecciones de localización extraintestinal.

El género *Proteus* es uno de los recién reorganizados, ya que los géneros creados hace poco, *Providencia* y *Morganella*, han sido conformados por especies que anteriormente eran incluidas dentro del género *Proteus*. Las especies que en la actualidad conforman este género son: *P. mirabilis*, *P. myxofaciens*, *P. penneri* y *P. vulgaris* biogrupos 2 y 3. De estas especies, *P. myxofaciens* nunca ha sido identificado en muestras procedentes del hombre. Los cultivos de todas las especies se caracterizan por su olor peculiar y por su forma de extenderse como sábana sobre el agar. La enzima ureasa cromosómicamente codificada, se plantea que sea un elemento importante en la patogenia de la infección por *Proteus*; el amonio desprendido de la acción de la enzima lesiona el epitelio urinario, además de alcalinizar la orina, lo cual favorece los depósitos de sales y la formación de cálculos. *Proteus* puede permanecer en estos cálculos y dar lugar así a infecciones recurrentes por esta bacteria. Otros factores de virulencia a considerar en este microorganismo son la invasividad y la producción de una bacteriocina, la proticina. Se plantea que la presencia de fimbrias es la responsable de la adherencia de *Proteus* al epitelio urogenital.

El género *Morganella* incluye una sola especie, *M. morganii*, este microorganismo principalmente se describe como causa de sepsis urinaria.

El género *Providencia* está constituido por las especies: *P. rettgeri* y *P. stuartii*, que son las identificadas con más frecuencia como causa de infecciones urinarias de origen nosocomial por manipulación como las cateterizaciones o por infecciones debidas a otra patología urológica de base. Otras especies dentro del género: *P. alcalifaciens*, *P. rustigianii*, son raramente descritas como causa de infección; y la especie *P. heimbachae* no ha sido identificada a partir de muestras clínicas.

El resto de los géneros y especies que conforman la familia *Enterobacteriaceae* son de poca importancia como causa de enfermedad extraintestinal en el hombre.

Cualquiera de las enterobacterias antes mencionadas puede dar lugar al shock endotóxico; para el diagnóstico de presencia de endotoxina se utiliza la prueba de lisado de limulus preparado a partir del *Limulus polyphemus*, el reactivo se torna gelatinoso cuando se pone en contacto con la endotoxina, aunque esta se encuentre solamente en pequeñas cantidades.

Diagnóstico de laboratorio

Las muestras utilizadas para el diagnóstico de las infecciones extraintestinales por enterobacterias dependerá de la localización de estas. Dichas muestras se inocularán en los medios universales y diferenciales establecidos para el aislamiento en muestras clínicas. Se debe utilizar el método cuantitativo en la interpretación del crecimiento bacteriano en la muestra donde hay flora mixta.

A partir de las cepas aisladas se hará el diagnóstico por su acción sobre los distintos sustratos utilizando los métodos comercialmente establecidos o los métodos convencionales, valiéndose de las tablas clasificadoras reconocidas o los métodos codificados para su clasificación.

La presencia de endotoxina se puede detectar por el método anteriormente descrito.

Por la importancia que tiene la presencia de resistencia a los antibióticos por parte de las cepas, las pruebas de resistencia son imprescindibles para detectar las cepas multirresistentes principales causantes de epidemias y brotes nosocomiales.

RESUMEN

Enterobacteriaceae es una compleja familia, compuesta por bacilos gramnegativos, oxidasa negativa, que fermentan la glucosa en su metabolismo. Diversos son los géneros que conforman esta familia, pero los principales patógenos o potencialmente patógenos para el hombre se circunscriben a 25 especies como las más frecuentes.

Por medio de su estructura antigénica, muchos de estos microorganismos pueden agruparse en serogrupos y serotipos; otros, en los cuales sus antígenos se comparten entre muchos miembros de la familia, esta clasificación no puede aplicarse por el entrecruzamiento antigénico.

Las enfermedades producidas por estas bacterias pueden estar localizadas en el intestino, como ocurre con las diferentes clases de *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia*; cada una de ellas tiene un patrón de patogenicidad propio, así como características clínicas y epidemiológicas que las definen.

Otros géneros y especies de enterobacterias forman parte de la flora intestinal normal y de las superficies expuestas, pero pueden ser causa importante de enfermedad cuando actúan como oportunistas, y ocasionan enfermedades comunitarias o nosocomiales.

Algunos miembros del género *Salmonella* como la *S. typhi* y *S. paratyphi* A, B y C, se comportan como patógenos primarios extraintestinales; lo mismo ocurre con *Y. pestis* y *Y. pseudotuberculosis*.

Los mecanismos con que cuentan las enterobacterias para producir enfermedad son variados, pudiendo estar presentes la invasión, la toxigenicidad por toxinas termoestables o termolábiles, las citotoxinas, las endotoxinas, la adhesión y la diseminación hemática. En la actualidad, cada uno de los mecanismos ha sido identificado en las distintas especies, estando muchos de ellos relacionados con la información mediada por plásmidos o la cromosómica.

El diagnóstico se basa en su comportamiento fisiológico, en su definición de antígenos, el estudio del ADN, la determinación de plásmidos, el estudio de las toxinas y la determinación de los patrones de resistencia.

Los diagnósticos por niveles de anticuerpos están enmarcados sólo en algunas enfermedades como la yersiniosis y la búsqueda de portadores de *S. typhi* o *S. dysenteriae*.

A pesar de los nuevos conceptos introducidos en esta familia y de las nuevas clasificaciones, estas importantes bacterias están constantemente sometidas a cambios en su clasificación y mecanismos de patogenicidad.

BIBLIOGRAFÍA

- Albritton W. *Yersinia*. En: Behrman R, Kliegman R, Arvin A (eds.). Nelson. Tratado de Pediatría. 15ta ed. La Habana: Ed. Ciencias Médicas, 1998:1009-13.
- Blanco J, Blanco M, Alonso MP et al. Factores de virulencia de los *Escherichia coli* causantes de infecciones extraintestinales. Santiago de Compostela: Servicio de Publicaciones e Intercambio Científico, Campus Universitario, 1992.
- Boedeker EC. Enteroadherent (enteropathogenic) *Escherichia coli*. En: Farthing MJG, Keusch GT (eds.). Enteric Infection. Mechanism, manifestations and management. New York: Raven Press, 1989:123-39.
- Craig RD. *Salmonella* sepsis in infancy. Am J Dis Child 1981;135:1096.
- Edwards PR, Ewing WH. Identification of *Enterobacteriaceae*. 3rd ed. Minneapolis: Mn. Burgess Publishing Co., 1972.
- Falkow S, Mekalanos J. Bacilos entéricos y vibrios. En: Davis B, Dulbecco R, Eisen H, Ginsberg H, (eds.). Tratado de Microbiología Clínica. 4ta ed. Barcelona: Masson SA, 1996:541-66.

- Farmer III JJ, Kelly MT *Enterobacteriaceae*. En: Balows A, Hausler W, Herrman K et al. (eds.). Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. Washington: American Society for Microbiology, 1991:360-83.
- Groisman EA, Ochman H. The Path to *Salmonella*. ASM News 2000;66(1):21-7.
- _____. How *Salmonella* became a pathogen. Trends Microbiol 1997;5:343-9.
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg A (eds.). Manual de Microbiología Médica. 15ta ed. en español. México D.F.: Ed. El Manual Moderno SA, 1996:249-63.
- Kenny B, DeVinney R, Stein M et. al. Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) transfers its receptor for intimate adherence into mammalian cells. Cells 1997;91:511-20.
- Knutton ST, Baldwin T, Williams PH, McNeisch. Actin accumulation at sites of bacterial adhesion to tissue culture cells: basis of a new diagnostic test for enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Infect. Immun 1989;57:1290-8.
- Koneman E, Allen S, Dowell VR et al. (eds.). The *Enterobacteriaceae*. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 3rd ed. Philadelphia: J.B. Lippincott Company, 1988.
- Le Minor L, Popoff MY. Designation of *Salmonella enterica* sp. Nov nom. Rev. As the type and only species of the genus *Salmonella*. Int J Systematic Bacteriology 1987;37(4):465-8.
- Lim YS, Tay L. Failure to isolate *Yersinia enterocolitica* from patients with diarrhoea in Singapore. J Diarrhoeal Dis Res 1992;10(3):159-60.
- Mayo Clinic, Section of Clinical Microbiology. Bacteriology Laboratory Procedure Manual. 19th ed. 1988.
- Nataro J, Kaper J. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Cl. Microb Rev 1998;11(1):142-201.
- OPS. El control de las enfermedades transmisibles en el hombre. Publ Cient No. 442, 1997.
- Paton JC, Paton AW. Pathogenesis and diagnosis of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* infection. Cl Microb Rev, 1998;vol 11(3):450-7.
- Podschun R, Ullman UC. *Klebsiella* spp. as Nosocomial pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing methods and pathogenicity factors. Cl Microb Rev 1998;11(4):589-603.
- Proctor RA, Denlinger LC, Bertics PJ. Lipopolysaccharide and Bacterial virulence. In: Roch J A. (ed.). Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens. 2nd ed. Washington: American Society for Microbiology 1995:173-84.
- Reymond D, Karmarli MA, Clarke I et al. Comparison of the Western blot assay with the neutralizing-antibody and enzyme-linked-immunosorbent assays for measuring antibody to verocitotoxin.1. J Clin Microbiol 1997;35:609-13.
- Rodríguez CO, Gorrín N, Valdés-Dapena MM, Marshall A. Diarrea aguda sanguinolenta: bacteriana y parasitaria. Rev Soc Bol Ped 1992;31(2):37-9.
- Romero Cabello R. Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. México D.F.: Ed. Médica Panamericana, 1997:292-312.
- Sanders C, Sanders E.. Beta-Lactam resistance in gram negative bacteria: Global trends and clinical impact. Clin Infect Dis 1992;15:824-39.
- Savarino SJ, McVeigh A, Watson J et al. Enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin is not restricted to enteroaggregative *E. coli*. J Infect Dis 1996;173:1019-22.
- Smith HR, Scotland SM. Isolation and identification methods for *Escherichia coli* O157 and other Vero cytotoxins producing strains. J Clin Pathol 1993;46:10-7.
- Tarr PI. *Escherichia coli* O157:H7: clinical, diagnostic, and epidemiological aspects of human infection. Clin Infect Dis 1995;20:1-8.
- Thorne GM. Diagnostic tests in gastrointestinal infections .Current Opinion in Gastroenterology, 1993;9:126-33.
- Toth I, Cohen ML, Rumschlaag HS et al. Influence of the 60 –megadalton plasmid on adherence of *Escherichia coli* O 157:H7 and genetics derivatives. Infect. Immun 1990;58:1223-31.
- Valdés-Dapena MM. Development of diagnosis of enteropathogenic bacteria with special emphasis on *Campylobacter* (Dissertation). Budapest (Hungary): Univ. Semmelweis, 1984
- Valdés-Dapena MM, Rodríguez R, Ceballos E et al. Pesquisa de *E. coli* enterohemorrágica como causa de diarreas en niños. Rev Soc Bol Ped 1992;31(2):34-6.
- Valdés-Dapena MM, Rodríguez O, Gorrín N, Jorrin M. Etiología bacteriana de la enfermedad diarreica aguda. Rev Soc Bol Ped 1992;31(3):63-6.
- Valdés-Dapena MM, Sagaró E, Fragoso T. Incidencia de bacterias patógenas entéricas en la diarrea persistente. Rev Soc Bol Ped 1992;31(3):67-9.
- Wittler R, Bass J. Nontyphoidal *Salmonella* enteric infections and Bacteriemia. J Ped Inf Dis, 1991;10(41):22.
- Yamada SA, Kai A, Kudoh Y. Serodiagnosis by passive hemagglutination test and verotoxin enzyme-linked immunosorbent assay of toxin-producing *Escherichia coli* infections in patients with hemolytic-uremic syndrome. J Clin Microbiol 1994;32:955-9.
- Weissfeld A, McNamara AM, Tesh V, Howard B. *Enterobacteriaceae*. En: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF et al. (eds.). Clinical and pathogenic Microbiology. 2nd ed. St Louis: Mosby-Year Book Inc 1994:299-36.
- Wilkins EG, Roberts C. Extraintestinal salmonellosis. Epidem Inf 1988;100:361-8.

A graphic featuring the word "Capítulo" in a purple serif font above the number "27" in a larger, bold purple serif font. Both are set against a light yellow circular background with a subtle texture. A horizontal purple line extends from the right side of the circle across the page.

Capítulo

27

Haemophilus y Gardnerella vaginalis

Teresita A. Leiva Sánchez

HAEMOPHILUS

Este género de la familia *Brucellaceae* está conformado por varias especies, unas son patógenas humanas y otras forman parte de la flora normal o nativa de la nasofaringe. El término deriva del griego *haemo*: sangre y *philos*: afinidad, amor. Los microorganismos de este grupo son bacterias pleomórficas, gramnegativas, pequeñas, que requieren factores de crecimiento proporcionados por la sangre. La especie tipo, *Haemophilus influenzae*, causa diversas enfermedades humanas, que van desde las respiratorias crónicas hasta infecciones invasivas. El *Manual de Bacteriología Sistemática de Bergey* incluye el género *Haemophilus* en la sección denominada "Bacilos gramnegativos anaerobios facultativos". El género *Haemophilus* es uno de los tres de la familia *Pasteurellaceae*.

Un microorganismo dado es asignado habitualmente a este género sobre la base de sus requerimientos de los factores X o V (o ambos), derivados de la sangre. El factor X (termoestable) es protoporfirina IX en el caso de *H. influenzae* o hemina, en el caso de *H. aegyptius*, ya que este último carece de la enzima ferroquelatasa. Este factor es necesario para la síntesis de enzimas respiratorias que contienen hierro, citocromos, citocromo-oxidasa, catalasa y peroxidasa. El factor V (termolábil) es dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD), una coenzima necesaria para las reacciones de oxidación-reducción.

Se conocen 16 especies de *Haemophilus* y tres de ubicación incierta (*incertae sedis*). Las siguientes especies han sido relacionadas con enfermedad en humanos: *H. influenzae*, *H. aegyptius*, *H. ducreyi*, *H. parainfluenzae*, *H. parahaemolyticus*, *H. paraphrohaemolyticus*, *H. aphrophilus*, *H. segnis*, *H. haemolyticus* y *H. paraphrophilus*.

HAEMOPHILUS INFLUENZAE

Erróneamente relacionado como causa de una pandemia de influenza en 1890 debido a que fue aislado en un gran número de pacientes por Pfeiffer, este microorganismo está ampliamente distribuido en todo el mundo. Con antelación, Koch lo había descrito como causante de conjuntivitis en pacientes procedentes de Egipto, en 1883. Quizá su asociación con la influenza (de origen viral) se debió a la frecuencia de su aislamiento como invasor secundario en casos clínicos y en necropsias de pulmón de fallecidos. El serotipo b de *H. influenzae* habita en la nasofaringe del 1 al 5 % de la población sana en un tiempo determinado

(en niños que asisten a guarderías puede alcanzar el 91 %), disminuyendo en adultos y niños muy pequeños. Otras especies, excepto *H. aegyptius* y *H. ducreyi*, se aíslan también del tracto respiratorio superior en personas sanas.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. En las muestras de infecciones agudas, los microorganismos son bacilos cocoides cortos (1,5 μm) que forman a veces pequeñas cadenas. En cultivo, la morfología depende tanto de la edad como del medio empleado. A las 6 u 8 horas de cultivo en medio enriquecido, predominan las formas cocobacilares y luego aparecen bastoncillos más largos y pleomórficos. En cultivos jóvenes, los microorganismos presentan una cápsula definida. En ocasiones, utilizando la coloración de Gram con decoloración insuficiente, puede llegarse a la identificación errónea de estreptococos o neumococos que forman cadenas cortas.

Cultivo. En agar infusión de cerebro-corazón con sangre, se desarrollan en 24 horas colonias redondas, convexas, pequeñas (de menos de 1 mm de diámetro), con intensa iridiscencia y aspecto de rocío. En agar-chocolate, tardan de 36 a 48 horas en alcanzar diámetros de 1 mm. La sangre de ternero es la más adecuada, siguiendo en orden la de carnero, la humana, la de conejo, la de aves de corral y la de caballo.

Características del crecimiento. La identificación de los miembros del grupo depende, en parte, de que se demuestre la necesidad de ciertos factores de crecimiento, llamados X y V. Los organismos que requieren el factor V no crecen bien en agar-sangre de carnero convencional. Esto se atribuye a que ese factor no difunde bien en el medio a partir de los eritrocitos y a que los glóbulos de carnero poseen una NADasa que inactiva el factor V disponible. Para utilizar este medio en aislamiento primario, es necesario proporcionar algún otro microorganismo, como, por ejemplo, estafilococo, suministrador de grandes cantidades de factor V, que es excretado al medio. Las colonias alrededor de la estría de estafilococo (o de otros microorganismos como *Neisseria* y *Pseudomonas*, que tienen esa característica) crecen mucho más grandes. A esto se le conoce como *fenómeno del satelitismo* (Cuadro 27.1).

Variaciones. En cultivos jóvenes pueden aparecer mutantes espontáneas no encapsuladas, que dan lugar a colonias rugosas y opacas. Cuando las condiciones de cultivo no son óptimas, la frecuencia de aparición de estas variantes se incrementa.

Transformaciones. Se ha demostrado que puede tener lugar una transformación mediada por ADN en la síntesis del antígeno capsular, similar a la del neumococo, en los tejidos del hospedero; es decir, que *H. influenzae* es capaz de transferir especificidad de tipo a otras células. La resistencia al cloranfenicol y ampicilina se encuentra bajo control de genes en plásmidos transmisibles.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Haemophilus influenzae encapsulado contiene polisacáridos capsulares (PM > 150 000) de seis tipos diferentes: a, b, c, d, e, f. El antígeno capsular del tipo b es un fosfato de polirribosa-ribitol (PRP). En el tipo a, la ribosa es remplazada por glucosa. La estructura de los cuatro tipos restantes está íntimamente relacionada. Las reacciones cruzadas entre polisacáridos de microorganismos puede contribuir a la formación de anticuerpos naturales. Existe reactividad cruzada entre *H. influenzae* tipo b y cepas de *S. pneumoniae* serotipos 6; 15a; 2a y 35; *Streptococcus pyogenes*, *S. faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y *S. epidermidis*, quizá basada en el fosfato de ribitol de sus ácidos teicoicos. La reacción cruzada con cepas de *E. coli* K 100 está probablemente basada en el ribitol y la ribosa de sus antígenos.

Haemophilus influenzae encapsulado puede tipificarse por una prueba de hinchazón de la cápsula con antisuero específico (análoga al *quellung* de los neumococos). Mediante inmunofluorescencia es posible hacer una tipificación equivalente. La clasificación en serotipos capsulares debe realizarse a partir de cultivos jóvenes, ya que la estructura del

polisacárido tiende a deteriorarse en cultivos viejos. La mayoría de estos microorganismos en la flora normal de las vías respiratorias son no encapsulados.

Los antígenos somáticos de *H. influenzae* consisten en proteínas de la membrana externa. Los lipooligosacáridos (endotoxinas) comparten muchas estructuras con las de *Neisseria*.

Cuadro 27.1. Características morfológicas, culturales y de requerimiento de factores X y V de especies de *Haemophilus**

Organismo	Morfología (en agar-chocolate)	Características de las colonias	Requerimientos de factores	
			X	V
<i>H. influenzae</i>	Cocobacilos o bacilos cortos, regulares	Pequeñas, lisas, bordes enteros convexas, grisáceas, iridiscentes. A veces mucoides y coalescentes (cápsula)	+	+
<i>H. aegyptius</i>	Bacilos largos y delgados	Pequeñas, lisas, convexas, grisáceas, translúcidas	+	-
<i>H. haemolyticus</i>	Cocobacilos pequeños o bacilos cortos, filamentos ocasionales	Similares a <i>H. influenzae</i> pero hemolíticas en agar-sangre	+	+
<i>H. ducreyi</i>	Bacilos delgados en pares o cadenas. A veces en "banco de peces"	Pequeñas, lisas, planas, amarillentas, de translúcidas a opacas	+	-
<i>H. parainfluenzae</i>	Bacilos cortos, pleomórficos, a veces filamentos largos	Similares a <i>H. influenzae</i> , pero mayores (3 mm)	-	+
<i>H. parahaemolyticus</i>	Bacilos pequeños, pleomórficos, a veces filamentos largos	Similares a <i>H. parainfluenzae</i> pero, hemolíticas en agar-sangre	-	+
<i>H. paraphrohaemolyticus</i>	Bacilos cortos a medianos y filamentos cortos (en CO ₂). Bacilos gruesos, largos y filamentos torcidos (sin CO ₂)	Similares a <i>H. aphrophilus</i> pero hemolíticas en agar-sangre	-	-
<i>H. aphrophilus</i>	Bacilos cortos, regulares, con formas filamentosas ocasionales	Muy convexas, opacas, granulares, amarillentas	+	-
<i>H. paraphrophilus</i>	Bacilos cortos, regulares, filamentos ocasionales	Idénticas a <i>H. aphrophilus</i>	+	-
<i>H. segnis</i>	Bacilos pleomórficos, con predominio de filamentos irregulares	Convexas, blanco-grisáceas, lisas o granulares	+	-

* Tomado de:

Mangum ME.; *Haemophilus*. Ob. cit.

Morse SI, Anderson P. *Haemophilus*. Ob. cit.

Mogens K. Ob. cit.

PATOGENIA

La colonización de la nasofaringe usualmente precede a la infección por *H. influenzae* tipo b (Hib). Desde este sitio, el microorganismo puede extenderse localmente (por ejemplo, al oído medio) o invadir el torrente sanguíneo y causar meningitis, epiglotitis, artritis séptica, neumonía y osteomielitis. Antes de la introducción de las vacunas, Hib causaba decenas de miles de infecciones invasivas anualmente.

Los factores que influyen en la patogenicidad de *H. influenzae*, incluyendo su colonización, son pobremente comprendidos. Está claro que el polisacárido capsular es el mayor determinante de virulencia de Hib, pero se desconoce cómo promueve la enfermedad invasiva. Otros posibles factores incluyen los *pili* (una de cuyas clases permite la adhesión a células del epitelio bucal humano *in vitro*), un lipopolisacárido y un glicopéptido que inhiben la actividad ciliar de esas células *in vitro*, la producción de una proteasa y la capacidad para adquirir hierro directamente de la transferrina humana.

DATOS CLÍNICOS

Enfermedad en niños. La mayoría de las meningitis por Hib ocurren en niños entre 2 meses y 3 años de edad, más del 90 % antes de los 18 meses. De no existir programas de inmunización, se estima que 1 de cada 400 niños puede contraer enfermedad invasiva grave alrededor de los 5 años de edad. En escolares y adultos son más raros los casos. Esta relación con la edad preescolar se supone que se deba a los bajos niveles de anticuerpos en niños de 2 meses a 3 años. Otros factores como la constitución genética pueden desempeñar su papel y se presume que los anticuerpos maternos ejerzan protección hasta los 2 meses de edad. Hay un alto riesgo de infección secundaria en casos de meningitis, tanto en hermanos y padres como en otros contactos estrechos del paciente con enfermedad invasiva.

La epiglotitis está frecuentemente asociada con Hib, aunque algunos casos son ocasionados por estreptococo β -hemolítico, neumococo, estafilococo y otros microorganismos.

La verdadera incidencia de neumonía por *H. influenzae* en niños se desconoce, debido a las dificultades para un diagnóstico bacteriológico preciso. El esputo es muy difícil de obtener en niños menores de 4 años y, por otra parte, la presencia del organismo en esta muestra no necesariamente tiene relación causal con la neumonía. Se ha señalado que se puede considerar a *H. influenzae* como agente de una neumonía, si resulta positivo uno de los siguientes estudios: hemocultivo, respuesta de anticuerpos o presencia de antígeno en suero u orina del paciente. Algunos estudios sugieren que las reinfecciones exógenas o endógenas con *H. influenzae* coinciden con exacerbaciones de enfermedad pulmonar obstructiva crónica en muchos pacientes.

El Hib puede asociarse a muchas otras enfermedades en niños, tales como artritis séptica, celulitis bucal o periorbital y osteomielitis. Algunas cepas no encapsuladas pueden provocar otitis media, aunque no está claro si actúan como invasores primarios o secundarios, teniendo en cuenta que son miembros de la flora respiratoria alta. La presencia de *H. influenzae* en el tracto genital femenino se presume esté relacionada con infecciones en el feto y el recién nacido; además, se han reportado casos de infecciones urinarias por *H. influenzae* y *H. parainfluenzae*.

Enfermedad en el adulto. Algunas cepas no encapsuladas están relacionadas con sinusitis y bronquitis en adultos inmunocomprometidos. Tanto el Hib como algunas cepas no serotipables han sido asociados con enfermedad invasiva en adultos. Alrededor del 80 % de ellos presentaron factores de riesgo como alcoholismo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, cáncer, diabetes o trauma. En los casos de meningitis se ha encontrado con frecuencia el antecedente de trauma craneal, sinusitis crónica, otitis media o neumonía.

Teniendo en cuenta que *H. influenzae* es un miembro común de la flora respiratoria, es difícil probar su participación en estos procesos infecciosos, a menos que se aísle en muestras apropiadas como la sangre.

Haemophilus aegyptius (conocido también como bacilo de Koch-Weeks o como *H. influenzae* biotipo III), es el responsable de una conjuntivitis aguda y contagiosa, sobre todo en países cálidos. No precisa de factores predisponentes para su instalación, como *H. influenzae*. Aunque *H. aegyptius* y *H. influenzae* biotipo III tienen el mismo patrón bioquímico, se diferencian fenotípicamente, ya que *H. aegyptius* es más bacilar y delgado, aglutina eritrocitos, no fermenta la xilosa y es sensible a la troleandomicina (5 μ g). Los aislamientos de casos de fiebre purpúrica brasileña (*H. influenzae* biogrupo *aegyptius*) son distintos de otras cepas de *H. influenzae* y de *H. aegyptius* en su perfil de proteínas de membrana externa, patrón isoenzimático (multilocus de enzimas) y en que poseen un plásmido característico de 24 MDa. Esta forma clínica presenta una alta tasa de letalidad (alrededor del 75 %) y es precedida, habitualmente, por conjuntivitis.

Otra de las enfermedades producidas en adultos por este grupo de microorganismos es el "chancroide" o "chancro blando", una enfermedad transmitida por contacto sexual causada por *H. ducreyi*. Consiste en una úlcera de los genitales, con tumefacción e hipersensibilidad notables y linfadenopatía dolorosa que debe diferenciarse de la sífilis, el linfogranuloma venéreo y el herpes simple. Es endémico en muchas regiones tropicales y subtropicales del mundo.

La endocarditis es la más común de las infecciones producidas por *H. parainfluenzae*, seguida de las infecciones de las vías biliares. Otras infecciones son más raras. Se han asociado también a endocarditis las especies *H. aphrophilus* y *H. paraphrophilus*.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Muestras. Consisten en hisopados nasofaríngeos, sangre, pus (de diversas localizaciones) y líquido cefalorraquídeo (LCR), tanto para frotis como para cultivo. Siempre que sea posible, deberán inocularse directamente los medios de cultivo, ya que estos microorganismos pierden rápidamente la viabilidad.

Examen directo. El frotis de LCR para examen bacterioscópico es de gran utilidad, pues permite la observación de los cocobacilos característicos. Cuando hay abundantes microorganismos en las muestras, pueden identificarse mediante inmunofluorescencia o de manera directa con antisuero específico (para efectuar la prueba de hinchazón capsular). Se dispone en la actualidad de estuches o juegos comerciales para la detección de antígenos capsulares de *H. influenzae* en el LCR u otras muestras, mediante aglutinación de partículas de látex recubiertas con anticuerpos específicos, por la técnica de contrainmunolectroforesis o mediante coaglutinación con proteína A de células de estafilococo (CoA).

Cultivo. Las muestras se siembran en agar-chocolate enriquecido con algún suplemento comercial o preparado en el laboratorio. Pueden emplearse otros medios complejos como el Levinthal. Se incuban de 36 a 37 °C en atmósfera de 5 a 10 % de CO₂ y a las 24 horas se observan las colonias características. Se distingue de otros bacilos gramnegativos por su necesidad de factores X y V, además de su falta de hemólisis en agar-sangre.

Pruebas bioquímicas. Se emplean para la identificación de especies de *H. influenzae*. Estas pruebas se hacen en medio base de caldo con rojo fenol y los respectivos carbohidratos al 1 %, con suplemento de factores X y V (10 mg de cada uno por litro de medio), añadidos después de la esterilización en autoclave.

Las pruebas de producción de indol, ureasa y ornitina descarboxilasa son útiles para la clasificación de cepas de *H. influenzae* en ocho biotipos y *H. parainfluenzae* en siete. La biotipificación puede ser provechosa en el estudio de la epidemiología de la enfermedad.

Algunas características que pueden ser útiles en la identificación de *H. ducreyi* son su lento crecimiento, su requerimiento de hemina y las reacciones positivas a la oxidasa (empleando tetrametil y no dimetil-p-fenilendiamina), reducción de nitratos y fosfatasa alcalina. Como en todos los miembros del grupo, el requerimiento de hemina puede ser demostrado con la prueba de porfirina, basada en que las cepas que carecen de las enzimas designadas como A, B y C no son capaces de convertir el ácido aminolevulínico (ALA) en porfobilinógeno, porfirina y finalmente en hemina. *H. influenzae* es negativo a la prueba de porfirina, por tanto, no es capaz de producirla y requiere un suministro exógeno del factor X.

Existen diferentes sistemas comercialmente disponibles de tiras o discos de papel impregnados en factores de crecimiento. Se utiliza una suspensión de un cultivo de 4 horas en caldo soya-tripticosa (para diluir el factor X que pueda arrastrarse del cultivo primario). Se estra una placa de agar soya-tripticosa con un hisopo impregnado en la suspensión bacteriana; se colocan luego los discos o la tira de papel impregnados en factor X, V o ambos, separados al menos 20 mm. Se incuba durante la noche a 35 °C en 5 a 10 % de CO₂ y se realiza la lectura al día siguiente. Los microorganismos que requieran factores X y V crecerán sólo alrededor de la tira o disco que los contenga a ambos.

En la actualidad se dispone de otros tests comerciales que incorporan los convencionales modificados y añaden reacciones cromogénicas de enzima-sustrato. Por otra parte, existen pruebas de identificación por métodos de biología molecular (sondas de ADN) que han mostrado ser muy útiles en el diagnóstico de infecciones significativas en pediatría.

Susceptibilidad antimicrobiana. La mayoría de las cepas de *Haemophilus* son sensibles a una gama de antimicrobianos. Aproximadamente del 20 al 50 % de los aislamientos son resistentes a la ampicilina. Esta resistencia se debe, en principio, a una β -lactamasa transmitida por un plásmido. Otra causa puede ser la alteración de las proteínas de enlace o unión a la penicilina (PBP). Se debe realizar la prueba de producción de β -lactamasa a todos los aislamientos obtenidos en casos con significación clínica y los microbiólogos deben estar advertidos de que pueden aislarse cepas positivas y negativas a esta prueba en un mismo paciente, por lo cual hay que examinar cuidadosamente las colonias en busca de características morfológicas diferentes.

Teniendo en cuenta la posible resistencia de origen cromosómico a la ampicilina, en ausencia de producción de β -lactamasa, deben realizarse pruebas de susceptibilidad a

antimicrobianos a todas las cepas β -lactamasa negativa aisladas de casos clínicos. Las cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima y ceftriaxona) han resultado útiles en el tratamiento de la enfermedad invasiva. La mayoría de las cepas son sensibles al cloranfenicol.

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL

El único reservorio conocido para *H. influenzae* es el hombre. La transmisión ocurre por medio de microgotas de saliva y secreciones nasofaríngeas durante el período infectante y el sitio de entrada con mayor frecuencia es la nasofaringe. Se desconoce el período de incubación, pero probablemente sea de 2 a 4 días. El período de transmisibilidad dura todo el tiempo que estén presentes los microorganismos en la nasofaringe. La enfermedad deja de ser transmisible en el término de 24 a 48 horas de haber comenzado el tratamiento eficaz con antibióticos.

La inmunidad depende de la presencia de anticuerpos bactericidas o anticapsulares (o ambos) circulantes, adquiridos por vía transplacentaria o por infección previa. Se ha demostrado que las vacunas conjugadas de proteínas con polisacárido capsular (PRP), aplicadas a partir de los 3 meses de edad, han reducido la incidencia de enfermedad invasiva en niños. En los hogares donde se ha producido un caso clínico y en las guarderías infantiles o salones de preescolares, se recomienda la quimioprofilaxis con rifampicina a los contactos íntimos del enfermo, aunque esta medida está siendo sustituida por el uso de las vacunas mencionadas.

GARDNERELLA VAGINALIS

Gardnerella vaginalis está asociada con la vaginosis bacteriana, una infección polimicrobiana que también involucra bacterias anaerobias. Esta infección, caracterizada por una secreción vaginal blanco-grisácea y maloliente, así como por un bajo pH, presencia de células "índice" o "guía" y poca o ninguna inflamación del epitelio, fue inicialmente denominada *vaginitis inespecífica*. El término vaginosis es más adecuado debido a la presencia de mínima o ninguna inflamación y a su causa polimicrobiana. Se ha sugerido su transmisión sexual, pero esto, más que una evidencia, es una observación circunstancial.

Durante los últimos 30 años se han hecho varios cambios en la taxonomía de este microorganismo. En 1955, *Gardner* y *Dukes* aislaron este bacilo gramnegativo pequeño a partir de secreciones vaginales de mujeres con vaginitis inespecífica. A causa de su morfología y a su necesidad de ciertos factores de la sangre, fue denominado *Haemophilus vaginalis*. Estudios posteriores, sin embargo, demostraron que los factores X y V no eran absolutamente necesarios para el crecimiento, aunque lo estimulaban. *Zinnermann* y *Turner* estudiaron aislamientos de *H. vaginalis* de *Dukes* y otros investigadores en 1963. El hecho de que muchos aislamientos fueran pleomórficos y, en ocasiones, grampositivos o gramvariables, como las corinebacterias, llevó a los autores a proponer su reclasificación como *Corynebacterium vaginale*. En 1980, *Greenwood* y *Pickett* reportaron los resultados de estudios de hibridización del ADN y de análisis bioquímicos de la pared celular, los cuales revelaron que el microorganismo era único y, por tanto, debía ser incluido en un nuevo género. Se propuso el nombre *Gardnerella vaginalis*, actualmente incluida en el volumen 2, sección 15: "Bacilos grampositivos irregulares no esporulados", del *Manual de Bergey*.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. La coloración de Gram revela cocobacilos pequeños, pleomórficos, gramnegativos o gramvariables, algunos de los cuales tienen extremos en punta.

Cultivo. Los medios deberán incubarse a 35 °C en atmósfera de un 5 a 10 % de CO₂ o por el método de la jarra con vela.

Características del crecimiento. En medio agar-sangre humana con Tween 80 (HBT) las colonias son β -hemolíticas, opacas, grises, convexas, de 0,3 a 0,5 mm de diámetro. En agar- vaginalis (V-agar), las colonias aparecen opacas, en cúpula, de 0,5 mm de diámetro y rodeadas por una zona difusa de β -hemólisis.

Aunque *G. vaginalis* se aísla virtualmente de todas las mujeres con vaginosis bacteriana, puede también ser aislada en el 40 % de mujeres sanas, de modo que un frotis del exudado vaginal unido a otros hallazgos clínicos resulta más útil en el diagnóstico que el cultivo. Cuando se desea la confirmación por cultivo, es factible emplear medios con sangre semiselectivos (con Tween 80) o medios no selectivos. Puede utilizarse también el medio agar Columbia colistina-ácido nalidixico (CNA), aunque no es posible observarse la hemólisis.

PATOGENIA, PATOLOGÍA Y DATOS CLÍNICOS

Como se dijo anteriormente, *G. vaginalis* está presente en la flora normal de muchas mujeres, con la consiguiente dificultad para la interpretación de los resultados del cultivo. De manera que el diagnóstico de la vaginosis bacteriana sobre la base de criterios clínicos, es más práctico que el diagnóstico basado en el cultivo. De acuerdo con *Amsel*, la presencia de tres de los cuatro signos siguientes significa la existencia de *G. vaginalis* en el 98 % de los casos: pH vaginal por encima de 4,5; secreción vaginal fina, homogénea, de consistencia lechosa; olor "a pescado" cuando se añade una gota de hidróxido de potasio (KOH) al 10 % a la secreción y presencia de células "índice" o "guía". *G. vaginalis* y otros microorganismos pueden actuar sinérgicamente causando la vaginosis bacteriana, aunque su papel específico es incierto.

Gardnerella vaginalis ha sido también asociada a sepsis materna y neonatal. De hecho, estudios recientes sugieren que este microorganismo puede ser la causa más común de bacteriemia posparto que lo que se había propuesto anteriormente. La incapacidad de ciertos medios para garantizar el crecimiento de este microorganismo puede ser la razón del bajo reporte de aislamientos. La vaginosis bacteriana ha sido también asociada a trabajo de parto prematuro y a endometritis posparto.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Muestras para examen directo y cultivo. Pueden tomarse muestras cervicales, uretrales o vaginales en mujeres infectadas y uretrales en hombres que son pareja de estas mujeres. Se emplean hisopos de algodón o de alginato de calcio duplicados, uno para preparar el frotis para coloración de Gram y el otro para introducir en un medio de transporte (Amies o Stuart). Alternativamente, puede descargarse el contenido del hisopo en solución salina, la que se inocula en el medio de cultivo y sirve, además, para preparar el frotis. *G. vaginalis* es factible aislarla de la sangre de mujeres con fiebre puerperal y de neonatos con sepsis. Puede emplearse también el método cuantitativo de placa vertida, con inoculación directa de la sangre en el agar, para luego contar las colonias. Se ha aislado de muestras de orina, pero su papel a ese nivel no está claro.

Examen directo. Un examen directo, en fresco, de secreción vaginal en solución salina, revela la presencia de las células "guía", que son grandes células epiteliales descamadas, con numerosos microorganismos unidos o fijados a su superficie. Cuando se realiza el Gram, se observan los cocobacilos gramnegativos o gramvariables. Estos hallazgos, unidos a la ausencia de bacilos grampositivos (*Lactobacillus*) típicos de la flora normal de la vagina, son de importancia en pacientes con vaginosis. Los frotis de secreciones vaginales en mujeres normales presentan gran cantidad de bacilos grampositivos y escasos cocobacilos gramvariables. La coloración de Gram es la prueba diagnóstica más importante en la vaginosis bacteriana y puede ser empleada sin cultivo, siempre que esté sustentada por los hallazgos clínicos característicos.

Identificación bioquímica. La observación de colonias β -hemolíticas en medio HBT, en combinación con la prueba de catalasa negativa y la presencia de bacilos cortos o cocobacilos gramnegativos o gramvariables, es un diagnóstico presuntivo de *G. vaginalis*. La identificación posterior y la diferenciación con otros bacilos o cocobacilos catalasa negativa, deberán incluir la hidrólisis del hipurato de sodio, la hidrólisis del almidón y la presencia de α y β -glucosidasa.

Susceptibilidad antimicrobiana. El metronidazol es efectivo en el tratamiento de la vaginosis bacteriana, aunque los microorganismos son, a menudo, resistentes a esta droga

in vitro. Debido a esta inconsistencia en los resultados, no se recomiendan las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.

RESUMEN

Se conocen 16 especies de *Haemophilus* y tres de ubicación incierta. La especie tipo, *Haemophilus influenzae*, causa diversas enfermedades humanas, desde las respiratorias crónicas hasta infecciones invasivas. El serotipo b de *H. influenzae* es el más importante patógeno del grupo; habita en la nasofaringe. Son bacilos cocoides cortos (1,5 µm) que forman a veces pequeñas cadenas. *H. influenzae* encapsulado contiene polisacáridos de seis tipos diferentes: a, b, c, d, e, f. Desde la nasofaringe, puede extenderse localmente o invadir el torrente sanguíneo y causar meningitis, epiglotitis, artritis séptica, neumonía y osteomielitis. *H. aegyptius* (conocido también como bacilo de Koch-Weeks o como *H. influenzae* biotipo III), es el responsable de una conjuntivitis aguda y contagiosa. Algunas cepas pueden causar la fiebre purpúrica brasileña (FPB). Otra de las enfermedades producidas es el "chancro blando", transmitida por contacto sexual, causada por *H. ducreyi*.

Las muestras útiles para el diagnóstico de *Haemophilus* consisten en hisopados nasofaríngeos, sangre, pus y LCR, tanto para frotis como para cultivo. El examen de LCR es de gran utilidad. Las muestras se siembran en agar-chocolate enriquecido. Se dispone de métodos de diagnóstico rápido (aglutinación de látex, contraelectroforesis o coaglutinación). La biotipificación mediante pruebas bioquímicas es útil en Epidemiología. La mayoría de las cepas son sensibles al cloranfenicol, las cefalosporinas de tercera generación han resultado útiles. Una vacuna conjugada de proteínas con polisacárido capsular, aplicada a partir de los 3 meses de edad, puede evitar la enfermedad invasiva en niños. En Cuba se trabaja actualmente en la obtención de una vacuna de este tipo.

Gardnerella vaginalis son cocobacilos pequeños, pleomórficos, gramnegativos o gramvariables. Aunque se aísla virtualmente de todas las mujeres con vaginosis bacteriana, puede también ser aislada en el 40 % de mujeres sanas. Un frotis del exudado vaginal unido a otros hallazgos clínicos resulta útil en el diagnóstico. Puede aislarse de la sangre de mujeres con fiebre puerperal y de neonatos con sepsis. Un examen en fresco de secreción vaginal revela la presencia de las células "guía" características unidas a cocobacilos gramnegativos o gramvariables. Estos hallazgos son de importancia diagnóstica en pacientes con vaginosis.

BIBLIOGRAFÍA

- Behrman RE, Kliegman, RM, Arvin, AM. (eds.). Nelson. Tratado de Pediatría. 15ta ed. Vol. II, McGraw-Hill. Interamericana, 1997.
- Benenson AS. Meningitis por *Haemophilus influenzae*. En: El Control de las Enfermedades Transmisibles en el Hombre. 15ta ed. Informe Oficial de la Asociación Estadounidense de Salud Pública. Publicación Científica No. 538, Organización Panamericana de la Salud, 1992.
- Groeneveld K, Van Alphen L, Eijk P, Visschers G. *et al.* Endogenous and exogenous reinfections by *Haemophilus influenzae* in patients with chronic obstructive pulmonary disease: the effect of antibiotic treatment on persistence. *J Infect Dis* 1990;161:512-7.
- Kristensen K. *Haemophilus influenzae* type b in adults. *Scand J Infect Dis* 1989;21:651-3.
- Mangum ME. *Haemophilus*. In: Howard BJ, Keiser, JF, Smith, TF, *et al.* (eds.). *Clinical and Pathogenic Microbiology*. 2nd ed. Mosby-Year Book, Inc, 1994.
- Mogens K. *Haemophilus*. In: Ballows A, Hausler WJ, Herrman KL *et al.* (eds.). *Manual of Clinical Microbiology*. 15th ed. Washington: American Society for Microbiology, 1991.
- Morgan M, Hamilton-Miller JM. *Haemophilus influenzae* and *H. parainfluenzae* as urinary pathogens. *Journal of Infection* 1990;20:143-5.
- Morse SI, Anderson P. *Haemophilus*. In: Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS (eds.). *Microbiology*. 4th ed. JB Lippincott Company, 1990.
- Romero Cabello R. Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. 2da ed. México DF: Ed. Médica Panamericana, 1999.
- Shapiro, E.D., Ward, JI. The epidemiology and prevention of disease caused by *Haemophilus influenzae* type b. *Epidemiologic Reviews*, vol. 13, 1991.
- Weissfeld AS, McNamara AM, Almazan RD, McEvoy PL. Miscellaneous Pathogenic Organisms. In: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF, *et al.* (eds.). *Clinical and Pathogenic Microbiology*. 2nd ed. Mosby-Year Book, Inc, 1994.



Cocobacilos gramnegativos pequeños: *Brucella, Bordetella, Francisella* y *Pasteurella*

Olga A. Ginebra González
Teresita A. Leiva Sánchez

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos pertenecientes a los géneros *Brucella*, *Bordetella*, *Francisella* y *Pasteurella* son cocobacilos pequeños, gramnegativos, aerobios, cuyas relaciones taxonómicas están por ser determinadas. Aparecen listados en el *Manual de Bacteriología Sistemática* de Bergey, en la sección de cocos y bacilos gramnegativos aerobios, dentro de géneros no asignados a ninguna familia. Recientemente se ha propuesto una nueva familia, *Alcaligenaceae*, que incluye los géneros *Bordetella* y *Alcaligenes*. Antes, junto con *Haemophilus*, conformaban la familia *Brucellaceae*.

Por razones didácticas se estudiarán en un solo capítulo, detallando las características importantes, desde el punto de vista médico, de cada género por separado.

BRUCELLA

Los miembros del género *Brucella*, de la familia *Brucellaceae*, son parásitos intracelulares de mamíferos. Originalmente fueron descritos por *David Bruce*, en 1887, en bazo e hígado de soldados ingleses fallecidos en la Isla de Malta con una enfermedad llamada fiebre ondulante o fiebre de Malta. La fuente de los microorganismos fue establecida en 1904, cuando se aisló a partir de la leche y la orina de cabras enfermas. El segundo aislamiento fue realizado en Dinamarca, por *Bang*, en 1887, a partir de ganado con infección abortiva (enfermedad de Bang); y el tercero se realizó en Estados Unidos, en 1914, a partir de fetos de cerdos de partos prematuros. Aunque se han descrito seis especies (*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis* y *B. neotomae*), recientes estudios de hibridación del ADN indican que todas son biovariantes de la misma especie *B. melitensis*.

El hábitat más común para estos organismos es el ganado bovino (*B. abortus*), ovejas y cabras (*B. melitensis*, sólo ovejas *B. ovis*), ganado porcino (*B. suis*), perros (*B. canis*) y las

ratas del desierto (*B. neotomae*). Aunque existe un reservorio animal para cada especie, pueden ocurrir superposiciones, por ejemplo, se ha aislado *B. abortus*, *B. melitensis* y *B. suis* de ganado bovino. Los microorganismos pueden existir en estos animales sin enfermedad aparente, aunque algunas especies ocasionen grandes pérdidas económicas.

El hombre adquiere la infección a través de la ingestión de leche no pasteurizada o sus derivados, o mediante la manipulación de tejidos de animales infectados.

Brucella es parásito obligado de los animales y el hombre, y su localización es intracelular característica. Son relativamente inactivas desde el punto de vista metabólico. En el hombre, la brucelosis se caracteriza por su fase bacteriémica aguda, seguida por una etapa crónica que puede extenderse por varios años y afectar muchos tejidos.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Su aspecto en cultivos jóvenes varía desde cocos hasta bacilos de 0,5 x 0,3-0,9 μm de largo, con predominio de formas cocobacilares cortas. Son gramnegativos, pero a menudo se tiñen de forma irregular y son aerobios, inmóviles y no esporulados. En tejidos son usualmente intracelulares. Debido a que no retienen bien la coloración de contraste de Gram (safranina), muchas veces deberá usarse carbolfucsina en su lugar.

Cultivo. Las colonias son pequeñas, convexas, lisas en 2 a 5 días de incubación. Con el tiempo se transforman de translúcidas a grises. Las colonias de *B. canis* son rugosas, aunque todas las especies pueden mostrar ambas formas. No producen hemólisis.

Variaciones. Se conocen variantes lisas o mucoides y rugosas de las colonias de *Brucella*. Las primeras aparecen en cultivos jóvenes, pero en subcultivos sucesivos se van tornando rugosas, las cuales son menos virulentas y presentan una aglutinación menos específica. Puede haber variantes intermedias (I) o mucoides (M), también menos virulentas. El suero de los animales sensibles contiene una globulina y una lipoproteína que suprime el crecimiento de los tipos avirulentos (no lisos) y favorece el desarrollo de los virulentos. Las especies animales resistentes carecen de estos factores, de modo que puede ocurrir en ellos una mutación rápida hacia la virulencia. La D-alanina tiene un efecto similar *in vitro*.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

No es posible distinguir entre las diferentes especies de *Brucella* por pruebas de aglutinación, pero sí mediante reacciones de absorción de aglutininas. El suero de animales inmunizados con una cepa lisa aglutina frente a las tres especies principales de *Brucella*. Se han propuesto dos determinantes comunes (A y M) en diferentes proporciones, para dar explicación a esta reacción cruzada entre las cuatro especies. El determinante de superficie A es el más importante (proporción 20/1 con el determinante M) en las especies *B. abortus*, *B. suis* y *B. neotomae*. En *B. melitensis*, es M el antígeno predominante (en proporción 20/1 con el A). *B. canis* y *B. ovis* no contienen estos antígenos. Se ha demostrado un antígeno L de superficie que se parece al antígeno Vi de *Salmonella*.

PATOGENIA Y PATOLOGÍA

Aunque cada una de las especies tiene sus huéspedes preferidos, todas son patógenas en un amplio rango para los mamíferos en infecciones experimentales (curieles, conejos, ratones, monos) y para el hombre. Las vías comunes de infección en el hombre son el aparato digestivo, las mucosas y la piel. Los microorganismos avanzan desde la puerta de entrada por los vasos linfáticos y ganglios linfáticos regionales, y llegan al conducto torácico y la sangre, que los distribuye a los órganos parenquimatosos. En tejido linfático, hígado, bazo, médula ósea y otras partes del sistema reticuloendotelial, aparecen nódulos granulomatosos que pueden evolucionar hasta convertirse en abscesos. En estas lesiones *Brucella* es básicamente intracelular. Puede producir, en ocasiones, osteomielitis, meningitis y colecistitis.

La lesión histológica fundamental es la proliferación de células mononucleares, exudación de fibrina, necrosis con coagulación y fibrosis, así como granulomas, consistentes en

células epitelioides y células gigantes, con necrosis central y fibrosis periférica. Las cuatro especies que infectan al hombre tienen diferencias en su patogenicidad. *B. abortus* puede producir enfermedad leve sin complicaciones supurativas, con granulomas no caseosos del sistema reticuloendotelial. *B. canis* produce también enfermedad leve. La infección por *B. suis* tiende a ser crónica, con lesiones supurativas y granulomas caseosos. La infección por *B. melitensis* es mucho más aguda y grave. Se señala que la sensibilidad a la endotoxina puede desempeñar una función en la patogenia, ya que las personas con brucelosis activa reaccionan de manera más notable a la endotoxina que las normales. En las infecciones con aborto en bovinos, los microorganismos se encuentran, fundamentalmente, en la porción fetal de la placenta, las membranas fetales y el líquido amniótico. Este marcado viscerotropismo depende de la presencia de eritritol, un polihidroalcohol ($\text{HOCH}_2\text{-CHOH-CHOH-CH}_2\text{OH}$) que estimula el crecimiento de *B. abortus* y se halla en cantidades apreciables sólo en la placenta de animales propensos al aborto séptico (vacas, carneros, cerdos, cabras y perros) y no en la placenta humana; el aborto no es parte de la infección en el hombre. Tampoco existe eritritol en los macrófagos ni en el sistema reticuloendotelial, lo que hace suponer que no es determinante para la infección por *Brucella*.

No se han descrito exotoxinas ni cápsulas antifagocíticas entre las especies de *Brucella*. La evolución de la infección depende, en gran medida, de la capacidad de penetrar y multiplicarse dentro de las células de mamíferos. Los polimorfonucleares ingieren fácilmente estos microorganismos. Las cepas lisas son más resistentes a la muerte intrafagocítica que las rugosas. La estimulación habitual del metabolismo oxidativo que acompaña a la fagocitosis no ocurre en la infección por *B. abortus*. Parece haber una inhibición de la degranulación de los neutrófilos (fusión fagosoma-lisosoma), con liberación dentro del fagosoma de estas enzimas, incluyendo la mieloperoxidasa. Como consecuencia, se suprime la actividad antibacteriana de los polimorfonucleares. Se estima que existe producción de un factor de virulencia *in vivo* que incrementa la supervivencia intracelular, de modo que *B. abortus* obtenida de cultivos de monocitos o procedente de tejidos infectados es más virulenta que la misma cepa cultivada en medios artificiales. El daño hepático es frecuente en la brucelosis humana, en forma de hepatitis difusa con necrosis focal o en forma de pequeños granulomas crónicos no caseosos. *B. suis* puede causar abscesos crónicos supurativos con calcificación después de varios años en hígado y bazo.

DATOS CLÍNICOS

El período de incubación en humanos es largo, a menudo varias semanas o incluso meses. El comienzo es usualmente insidioso, con malestar, escalofríos, sudaciones, debilidad, mialgia, cefalea. La fiebre puede ser remitente, particularmente en *B. melitensis* (fiebre ondulante; son comunes los síntomas gastrointestinales y del sistema nervioso. La enfermedad aguda se asocia con adenopatía notable, esplenomegalia, hepatomegalia y espondilitis vertebral localizada. En más del 20 % de los casos se presenta bacteriemia y a veces, también, meningoencefalitis, osteomielitis, endocarditis, nefritis intersticial con lesiones focales en el glomérulo. Puede ocurrir orquiepididimitis en infecciones con *B. melitensis*. El diagnóstico en los estadios crónicos es sumamente difícil. No es posible aislar *Brucella* a partir de muestras del paciente en esta etapa, pero el título de aglutininas suele ser elevado.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

El diagnóstico es casi siempre sugerido por la combinación de una serie de consideraciones clínicas y epidemiológicas, aunque el diagnóstico definitivo se basa en el cultivo del microorganismo.

Muestras. La mayoría de los aislamientos de *Brucella* proceden de la sangre, de manera que siempre que se sospeche la enfermedad, deben tomarse estas muestras. También son útiles las muestras de médula ósea, ganglios, hueso, hígado, bazo o líquido cefalorraquídeo para cultivo, y suero para las pruebas serológicas. Debido a que un alto porcentaje de casos son infecciones adquiridas en el laboratorio, deberán tomarse precauciones para evitar aerosoles y contacto con la piel o mucosas. Se requiere un nivel de bioseguridad grado 3 para la manipulación de esas muestras.

Cultivo. La mayoría de los frascos comerciales con medios para hemocultivo son útiles para el cultivo de *Brucella* (infusión cerebro-corazón, caldo soya-tripticosa), si se ventilan continuamente y se incuban en atmósfera de 5 a 10 % de CO₂ (sobre todo *B. abortus*) en el cultivo primario. Debido a que el medio no muestra suficiente turbidez observable a simple vista, deberán hacerse subcultivos a ciegas a los 2; 7 y 14 días, manteniendo las placas durante una semana en incubación. Pueden cultivarse fragmentos de órganos o tejidos, así como médula ósea. Aunque la mayoría de las cepas crecen bien en caldo *Brucella* o caldo soya-tripticosa (TSB) sin suplemento, puede añadirse sangre o suero para estimular el crecimiento. El medio de Ruiz-Castañeda (bifásico) y otros sistemas comerciales para hemocultivo resultan de gran utilidad.

Características del crecimiento. Sus características nutricionales son complejas; se han cultivado algunas especies en medios químicamente definidos que contienen aminoácidos, vitaminas, sales y glucosa. Utilizan carbohidratos, pero no producen ácido ni gas en cantidades suficientes para su clasificación. Las cuatro especies que infectan al hombre elaboran catalasa y oxidasa, algunas producen sulfuro de hidrógeno, reducen los nitratos a nitritos e hidrolizan la urea.

Identificación bioquímica. El género *Brucella* se caracteriza como microorganismos gramnegativos, inmóviles, usualmente oxidasa positiva, catalasa positiva, que oxidan la glucosa o no la utilizan, no tienen cápsula ni forman esporas. Las características entre especies se muestran en el Cuadro 28.1

Cuadro 28.1. Características de *Brucella* spp

Especies	Ureasa*	Producción H ₂ S***	Requerimiento CO ₂
<i>B. abortus</i>	1-2 horas	+ **	V
<i>B. melitensis</i>	V	-	-
<i>B. suis</i>	< 30 min	-	-
<i>B. canis</i>	< 30 min	-	-

*: inóculo cargado; +: > 90 % positivo; -: < 10 % positivo; V: 10-90 % positivo.

** : la mayoría de cepas;

***: detectado mediante tira de acetato de plomo.

Tomado de: Clarridge JE. Ob. cit.

Pruebas serológicas. La mayoría de los casos de brucelosis se diagnostican por pruebas serológicas. La concentración de anticuerpos IgM se eleva durante la primera semana de la enfermedad aguda, tiene un máximo a los 3 meses y puede persistir durante la fase crónica. Incluso con terapéutica de antibióticos apropiada, los títulos altos de IgM pueden permanecer hasta 2 años en un pequeño porcentaje de casos. La concentración de anticuerpos IgG se eleva alrededor de 3 semanas después del comienzo de la enfermedad aguda, llega a un máximo en 6 a 8 semanas y permanece alta durante la fase crónica. Los valores de IgA van en paralelo con los de IgG. Las pruebas serológicas comunes pueden fallar en el diagnóstico de *B. canis*.

Prueba de aglutinación: se emplea una suspensión fenolizada de un cultivo de bacilos lisos, muertos por calentamiento. Habitualmente se utiliza la cepa de referencia de *Brucella abortus* No. 456. Los títulos por encima de 1:80 se consideran indicativos de infección reciente o pasada. Un aumento en cuatro diluciones entre el primer y el segundo sueros tomados durante el curso de la infección, es una fuerte evidencia para el diagnóstico. Puede haber reacción cruzada con *Francisella tularensis*, *Yersinia enterocolitica* y *Vibrio cholerae*. Los títulos permanecen elevados (1:640 hasta 1:2 560) durante la fase activa y por lo general declinan cuando el paciente mejora. A veces pueden aparecer títulos en individuos expuestos por razones ocupacionales. Los recrudescimientos o persistencias de enfermedad activa crónica se asocian con la presencia de IgG.

Prueba del 2-mercaptoetanol: la adición de 2-mercaptoetanol destruye la IgM y deja indemne la IgG para las reacciones de aglutinación. En pacientes sintomáticos, la presencia de aglutininas IgG resistentes al 2-mercaptoetanol (en títulos menores de 1:100) sugiere

brucelosis activa. Su ausencia es significativa en la evaluación de la posible brucelosis crónica.

Anticuerpos bloqueadores: son anticuerpos IgA que interfieren con la aglutinación por IgG e IgM y hacen que una prueba serológica sea negativa en diluciones bajas (prozona), aunque en diluciones más altas resulte positiva. Estos anticuerpos aparecen durante la etapa subaguda de la infección, tienden a persistir durante años y pueden ser detectados diluyendo el suero al menos hasta 1:280 (en solución salina o albúmina al 5 %) o añadiendo inmunoglobulina antihumana (reactivo de Coombs).

Ensayo inmunoenzimático (ELISA): se ha desarrollado para la detección directa de IgG e IgM individualmente. Se emplea un antígeno de proteínas de membrana externa (OM) de *B. melitensis*, que es capaz de detectar anticuerpos contra *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* y *B. canis*. Esta última carece de antígeno somático O, por lo que no es detectable por aglutinación.

Prueba cutánea. Cuando se inyecta por vía intradérmica un extracto de *Brucella*, aparecen eritema, edema e induración en un plazo de 24 horas en algunos individuos infectados. La prueba cutánea no es digna de confianza para el diagnóstico y su uso está limitado a encuestas en la población.

Susceptibilidad antimicrobiana. A causa de la localización intracelular de estos microorganismos y de las dificultades para su crecimiento, los métodos de medición de la susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* no son útiles para predecir la respuesta clínica al tratamiento.

TRATAMIENTO

La dificultad para erradicar estos microorganismos se debe a su localización intracelular, que la protege tanto de las drogas antimicrobianas como de los anticuerpos. Se recomienda una terapia combinada de doxiciclina y rifampicina durante 6 semanas. Otras combinaciones incluyen tetraciclinas y un aminoglucósido o rifampicina con trimetoprim en niños menores de 7 años.

EPIDEMIOLOGÍA, PROFILAXIS Y CONTROL

A causa del contacto ocupacional, la brucelosis humana ocurre en hombres la mayoría de las veces. Muchas de las infecciones permanecen asintomáticas (latentes). Las proporciones de infección varían mucho según los diferentes animales en distintos países. Puede intentarse la erradicación de la brucelosis en los bovinos mediante pruebas y matanza, o inmunización activa de los novillos con la cepa No. 19 viva avirulenta, o una combinación de todas estas medidas. La inmunización activa del hombre es aún experimental. El control radica en evitar la diseminación, erradicar las infecciones en animales, pasteurización de la leche y productos lácteos, y reducción de los peligros ocupacionales.

BORDETELLA

En la séptima y octava ediciones del *Manual de Bacteriología Determinativa* de Bergey y en la primera del *Manual de Bacteriología Sistemática*, aparecen tres especies dentro del género *Bordetella* (*B. pertussis*, *B. parapertussis* y *B. bronchiseptica*), las cuales deben su nombre a Bordet, que junto con Gengou en 1906 aisló por primera vez *Bordetella pertussis*, agente de una enfermedad descrita desde el siglo XVI y denominada tos ferina. Posteriormente se identificaron *B. parapertussis*, que produce un padecimiento similar, pero de menor intensidad y es poco frecuente; y *B. bronchiseptica*, del perro, el gato y los conejos, y rara en humanos. En 1984 fue descrita una nueva especie que afecta las aves, *Bordetella avium*, y recientemente se ha propuesto una nueva familia para incluir el género *Bordetella*, separado de la familia *Brucellaceae*, donde se encuentra incluido en la actualidad.

Bordetella pertussis es patógena humana y posiblemente para algunos primates bajo condiciones especiales; no se conoce otro reservorio. Aunque la enfermedad es ligera en adultos, tiene una alta mortalidad en niños pequeños y hasta la introducción de la vacunación en los años 30, era considerada una de las enfermedades más frecuentes en la infancia.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Son cocobacilos gramnegativos, cortos, muy similares a *H. influenzae*, de 0,5 a 2 µm de largo x 0,5 µm de ancho. Las células pueden aparecer aisladas o en pares y raras veces en cadenas cortas. Mediante coloración con azul de toluidina se demuestran gránulos metacromáticos bipolares. El microorganismo tiene cápsula. Durante el procedimiento de la coloración de Gram, la safranina debe dejarse al menos 2 minutos; de otra forma los microorganismos pueden retener muy poco colorante y resultar difíciles de ver. Puede emplearse también una coloración de contraste a base de carbolfucsina.

Cultivo. Para el aislamiento primario de *B. pertussis* se requieren medios enriquecidos. Sus requerimientos nutricionales son simples, no utiliza azúcares, es en extremo sensible a los ácidos grasos, sobrevive pobremente sin factores protectores y no crece en los medios de cultivo habituales. El medio Bordet-Gengou estándar, con infusión de papa, glicerol y sangre de carnero es adecuado, pero generalmente inferior al medio Bordet-Gengou con meticilina o cefalexina (para inhibir los microorganismos nasofaríngeos normales), o al medio Reagan-Lowe, que contiene carbón (charcoal), sangre de caballo y cefalexina. Este último es también recomendado para transporte. *B. parapertussis* y *B. bronchiseptica* crecen en agar sangre de carnero. Los microorganismos del género *Bordetella* se cultivan a una temperatura de 35 a 37 °C, en ambiente húmedo, con 3 a 8 % de CO₂.

Características del crecimiento. La apariencia y características de las colonias del género *Bordetella* están resumidas en el Cuadro 28.2. Cuando *B. pertussis* es aislada de especímenes clínicos, crece en 3 a 4 días en forma de colonias lisas, elevadas, convexas, pequeñas, casi transparentes y rodeadas por una estrecha e indefinida zona de hemólisis; esta última característica se relaciona con la virulencia. En los subcultivos, no requieren de los factores X ni V.

Variaciones. Cuando se aísla de pacientes y se cultiva en medios enriquecidos, *B. pertussis* está en fase virulenta, productora de toxina. Hay dos mecanismos para que *B. pertussis* se desplace a formas avirulentas, no productoras de toxina y no hemolíticas. La variación fenotípica reversible ocurre cuando prolifera bajo determinadas condiciones ambientales (temperatura de 28 °C, presencia de MgSO₄). La variación reversible a la otra fase es el resultado de una mutación de baja frecuencia en el *locus* genético que controla la expresión de los factores de virulencia. Es posible que estos factores intervengan en el proceso infeccioso, pero esta función no se ha demostrado en la clínica. Las colonias de fase I (lisas, brillantes, hemolíticas) pueden variar a la fase IV (rugosas, sin brillo, no hemolíticas). Las colonias de fases II y III son de aspecto intermedio. Esta variación se debe a la pérdida del polisacárido capsular.

Cuadro 28.2. Características de *Bordetella* spp.

Característica	<i>Bordetella pertussis</i>		<i>B. bronchiseptica</i>	<i>B. parapertussis</i>
	Fase I	Fase IV		
Crecimiento en B-G	3-4 días	1-2 días	1-2 días	1 - 2 días
Apariencia en B-G	Semiperladas, enteras	Rugosas, mayores que fase I		Mayores que fase I, grisáceas
Crecimiento en agar-sangre	-	+	+	+
Inhibición por ácidos grasos y sulfuros	+	-	-	-
Ureasa	-	-	+	+
Nitratos	-	-	+	-
Pigmento pardo soluble	-	-	-	+
Exotoxina	+	-	-	-
<i>Pili</i>	+	-	-	-
Hemaglutinina filamentosas	+	-	-	-
Localización	Tracto respiratorio humano	Laboratorio	Animales. Raro en humanos	Humanos
Motilidad	-	-	+	-

+: > 90 % positivo; -: < 10 % positivo.

Tomado de Clarridge JE. Ob. cit.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Se ha identificado un antígeno O de naturaleza proteica que se encuentra en la pared de la bacteria; un antígeno K de la cápsula, que es un polisacárido que incluye varios serotipos, además del antígeno proteico de las fimbrias o *pili*.

TOXINAS Y ENZIMAS

Bordetella pertussis sintetiza varios factores que intervienen en la patogénesis de la enfermedad: la toxina pertussis, la hemaglutinina filamentosa, la toxina dermonecrótica, la citotoxina traqueal y una hemolisina. Es probable que los *pili* favorezcan la adherencia de la bacteria a células epiteliales ciliadas de las vías respiratorias superiores, conjuntamente con la hemaglutinina filamentosa. Cinco de los factores de virulencia son regulados de manera coordinada por el locus genético *bvg* (gen de virulencia de *Bordetella*), llamado también *vir*. La toxina pertussis favorece la linfocitosis, se cree que interviene en la adherencia a células epiteliales y tiene actividad de ribosilación de ADP, con una estructura y mecanismo de acción similares a los de la toxina del cólera. La hemaglutinina filamentosa y la toxina pertussis son proteínas secretadas al exterior de la bacteria. La toxina dermonecrótica (o letal) y la hemolisina también son reguladas por el locus *bvg*. La citotoxina traqueal inhibe la síntesis de ADN en las células ciliadas y no es regulada por *bvg*. El lipopolisacárido de la pared celular es, asimismo, importante en la causa de las lesiones en el epitelio de las vías respiratorias superiores. Teniendo en cuenta que *B. pertussis* se localiza exclusivamente en los cilios del epitelio respiratorio y que sus efectos sistémicos aparecen en tejidos distantes, aun después de que el microorganismo ha desaparecido, se ha propuesto que se trata de una enfermedad mediada por toxinas, entre las cuales la más importante es la toxina pertussis. Esta exotoxina, de peso molecular de alrededor de 120 000 Da, al igual que otras exotoxinas bacterianas, está compuesta por dos subunidades: la A (enzima activa), que es un polipéptido llamado S1, el cual tiene función de ADP-ribosil-transferasa; y la B (porción de unión), constituida por, al menos, tres polipéptidos diferentes, que se unen a carbohidratos específicos de la superficie de las células epiteliales ciliadas del tracto respiratorio y a glicoproteínas del suero. Luego de la unión específica mediante la subunidad B, la subunidad A penetra y cataliza la transferencia de la porción ADP-ribosa del NAD, mediante la inactivación de proteínas reguladoras unidas al GTP (G_i y N_i) de la membrana celular, cuya función normal es inhibir la adenilciclase. De este modo se logra la estimulación de dicha enzima, con el resultado de la síntesis de monofosfato de adenosina-cíclico (AMP-c). El mecanismo es paralelo, pero en sentido opuesto al de la toxina colérica.

No sólo la toxina pertussis estimula la adenilciclase, sino que también *B. pertussis* secreta su propia adenilciclase, capaz de penetrar en las células de mamíferos. Este producto reduce la actividad fagocítica de los macrófagos, ayudando de esta forma al inicio de la infección. *B. pertussis* produce, además, una toxina letal (antiguamente llamada factor dermonecrótico), que causa necrosis local cuando se inyecta intradérmicamente. En la patogenia de la enfermedad, se supone que cause inflamación adyacente a los sitios donde se localiza el microorganismo. Otro factor, llamado citotoxina traqueal, es tóxico para el epitelio ciliado pero su papel no está bien aclarado.

PATOGENIA, PATOLOGÍA Y DATOS CLÍNICOS

Bordetella pertussis sobrevive sólo durante períodos breves fuera del hospedero humano y no es transmitida por vectores. La transmisión se efectúa por vía respiratoria a partir de casos clínicos y quizá por medio de portadores. La patogénesis de la tos ferina no está totalmente esclarecida. Las investigaciones en este campo, con el objetivo de lograr vacunas más seguras, han llevado a la identificación de varios factores de virulencia. El microorganismo se adhiere a la superficie epitelial de la nasofaringe, aunque puede colonizar tráquea y bronquios con menor frecuencia; se multiplica con rapidez a este nivel (fase de colonización) e interfiere con la actividad ciliar. No invade la sangre; las bacterias liberan toxinas (fase toxémica) que actúan sobre las células superficiales. Más tarde puede haber necrosis

subepitelial, con pérdida de cilios como resultado del mecanismo de la tos y la acción de las toxinas, así como infiltración de polimorfonucleares, con inflamación peribronquial, neumonía intersticial, atelectasia por obstrucción de los bronquios más pequeños con tapones de moco y neumotórax.

Los invasores secundarios como estafilococos o *H. influenzae* pueden producir neumonía bacteriana. La falta de adecuada oxigenación producida por la tos y los vómitos, unida al efecto de la toxina pertussis, contribuyen probablemente a la aparición de convulsiones y encefalopatía en los lactantes con tos ferina. Durante la fase de colonización, que dura alrededor de 10 días, la fiebre y la tos van incrementando la intensidad y durante la fase toxémica, de instalación gradual, con paroxismos de tos que terminan en un "chillido" inspiratorio característico (*whooping*), se van presentando las complicaciones respiratorias. La severidad del cuadro en lactantes se atribuye a su incapacidad para expulsar las secreciones y para mantener una adecuada nutrición durante los paroxismos de tos.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Muestras. La muestra preferida es un lavado nasal con solución salina. Se usan hisopados nasofaríngeos o gotitas de tos expectoradas en una "placa de tos" o "placa tosida", sujeta frente a la boca del paciente durante un paroxismo de tos.

Examen directo. La prueba de anticuerpos fluorescentes (AF) se aplica a muestras tomadas con hisopos nasofaríngeos. No obstante, pueden producirse resultados falsos positivos o falsos negativos. La sensibilidad es del 50 %. Esta prueba es muy útil para la identificación de cultivos en medio sólido.

Cultivo. Las muestras se cultivan en medio Bordet-Gengou con antibióticos. Los microorganismos se identifican mediante aglutinación en lámina con antisuero específico o inmunofluorescencia directa.

Susceptibilidad antimicrobiana. Las tres especies son sensibles a una variada gama de antimicrobianos, aunque la eritromicina es la droga de elección.

Pruebas serológicas. Se han descrito varias pruebas serológicas, de utilidad limitada, ya que deberán diferenciarse los anticuerpos de fase aguda o convaleciente de los anticuerpos debidos a la inmunización. La detección de antígenos directamente de los especímenes, amplificada por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), ha mostrado ser más sensible que el cultivo.

Identificación bioquímica. Las características bioquímicas útiles en la identificación de especies de *Bordetella* se muestran en el Cuadro 28.2.

TRATAMIENTO

Bordetella pertussis es sensible a diversos fármacos antimicrobianos *in vitro*. La administración de eritromicina en la fase catarral de la enfermedad aumenta la eliminación de los microorganismos y puede tener valor profiláctico. Muy pocas veces el tratamiento impuesto después de iniciada la fase paroxística altera la evolución clínica. El oxígeno y la sedación pueden prevenir la lesión anóxica del cerebro.

EPIDEMIOLOGÍA, PROFILAXIS Y CONTROL

La tos ferina es endémica en la mayor parte de las regiones muy pobladas y ocurre también en forma epidémica. En la etapa catarral temprana, la transmisibilidad es alta (30 al 90 %). La mayoría de los casos ocurre en niños menores de 5 años y la mayor parte de las defunciones en el primer año de vida. El control de esta enfermedad descansa, primordialmente, en la inmunización de todos los lactantes, a partir de los 3 meses de edad. Los brotes suelen surgir en los sectores no vacunados de la población. Aunque existen complicaciones como consecuencia del uso de vacunas de células completas, esto no es justificación para no vacunar. Actualmente se trabaja en vacunas acelulares altamente purificadas en diversas partes del mundo, incluyendo Cuba.

FRANCISELLA

La historia de la tularemia es menos dramática y más corta que la de la peste bubónica. Mientras se trataba de cultivar el bacilo de la peste a partir de macerados de ardillas en el condado de Tulare, en California en 1912, McCoy y Chapin aislaron una nueva especie bacteriana, a la que llamaron *Bacterium tularense*. La enfermedad causada por este microorganismo fue descrita y estudiada pocos años más tarde por Edward Francis, que demostró que las liebres eran una importante fuente de infección humana y que la picadura de la "mosca de ciervos" era la vía de transmisión. Además, las garrapatas no sólo sirven como vectores, sino como reservorios, pues poseen transmisión transovárica. Aunque la picadura de estos artrópodos es un modo significativo de transmisión al hombre, el contacto directo con los tejidos de conejos o liebres infectados es el más común. El microorganismo gana acceso a través de abrasiones en la piel, a través de la conjuntiva, por ingestión de carnes poco cocinadas o por inhalación de aerosoles. Una pequeña dosis resulta infectante, aspecto que hace que este agente sea excepcionalmente peligroso en el laboratorio.

La taxonomía de este género es compleja. El patógeno más conocido es *F. tularensis*. Existen tres biogrupos de *Francisella tularensis*: biogrupo *novicida*, biogrupo *paleartica* y biogrupo *tularensis*. Los dos primeros se aíslan muy pocas veces y cuando se habla de *F. tularensis*, se hace referencia al biogrupo *tularensis*. Se ha descrito otra especie, *F. philomiragia*, aislada en humanos y asociada a varias enfermedades.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Bacilos gramnegativos cortos, inmóviles, no encapsulados (0,2 x 0,3-0,5 µm). A partir de cultivos jóvenes es morfológicamente uniforme, pero en cultivos viejos se vuelve pleomórfico, mostrando formas cocobacilares y filamentosas.

Cultivo. En medios adecuados, las colonias son pequeñas, lisas, puntiformes, grises. A las 48 horas miden 1 mm y llegan hasta 3 a 4 mm en 96 horas.

Características del crecimiento. *Francisella* spp. crece mejor en aerobiosis a 35 °C con adición de CO₂ o sin él. Se desarrolla preferiblemente en medios que contienen cisteína (cisteína-glucosa-sangre-agar o medio de yema de huevo coagulada), aunque crece también en medio charcoal-extracto de levadura y en Thayer-Martin o chocolate suplementado.

Variaciones. Las mutantes rugosas (menos virulentas) se reconocen con facilidad por el aspecto granular de las colonias.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Sólo se ha descrito un tipo inmunológico de *F. tularensis*. Se han extraído varios antígenos, un polisacárido que provoca reacción local inmediata en la piel de pacientes convalecientes, una proteína de reacción cruzada con antígenos del género *Brucella* y una endotoxina, cuyo papel en la patogénesis parece ser semejante al de la endotoxina de *Salmonella typhi*. No han sido descritas exotoxinas.

PATOGENIA

La tularemia es una zoonosis asociada a la exposición a roedores (conejos, liebres y algunos insectívoros) o sus garrapatas. La inoculación puede ocurrir a través de abrasiones de la piel durante la manipulación de animales. En 48 horas, aparecen las lesiones en el sitio de inoculación y progresan hasta formas ulcerosas, con adenopatías regionales. La tularemia pulmonar es una forma grave de la enfermedad que se produce por la inhalación de aerosoles en el laboratorio o durante la manipulación. Una vez que la bacteria ingresa al organismo, se localiza intracelularmente en los fagocitos mononucleares, donde sobrevive por largos períodos; luego de una bacteriemia transitoria, el microorganismo se disemina en órganos parenquimatosos, sobre todo en pulmones, hígado y bazo. Las lesiones características son granulomas en el sistema reticuloendotelial, que pueden caseificarse o formar pequeños abscesos. La inmunidad mediada por células parece ser el mecanismo de defensa más eficaz.

DATOS CLÍNICOS

La tularemia se manifiesta 5 días después de la infección, con inicio súbito, toma del estado general, hiporreflexia, hipodinamia, escalofríos, fiebre. Luego aparecen las lesiones ulcerosas en la piel y las adenopatías (forma ulceroganglionar). Otras formas clínicas son la tifoide o tifoide-ganglionar, con afectación de pulmones, ganglios, hígado y bazo. Se desarrolla neumonía y necrosis de vísceras y manifestaciones de sepsis. La forma orofaríngea muestra importantes lesiones a ese nivel y la forma oculoganglionar presenta lesiones con daño importante en los ojos. Los otros dos biogrupos de *Francisella* han sido asociados a formas más leves de la enfermedad y se han aislado cepas en agua.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Muestras. Biopsias de tejidos afectados (ganglios, hígado, bazo) para cultivo en medios adecuados.

Examen directo. El diagnóstico definitivo de la tularemia a partir de frotis de exudados, requiere de anticuerpos fluorescentes. Como los microorganismos son tan pequeños, el empleo de la coloración de Gram no da resultados satisfactorios.

Cultivo. Se requieren medios especiales enriquecidos. La identidad del microorganismo aislado se establece mediante anticuerpos fluorescentes.

Identificación bioquímica. El género *Francisella* se diferencia de otros similares en que es oxidasa negativa, requiere cisteína o cistina para el crecimiento, no crece en medios habituales, es aerobio obligado, no requiere CO₂. La identificación en biogrupos se basa en el crecimiento en agar McConkey, producción de H₂S en agar triple azúcar (TSI), de ácido a partir de la sacarosa e hidrólisis de la gelatina.

Pruebas serológicas. Otra muestra importante es el suero para diagnóstico indirecto. Las aglutininas aparecen a los 8 o 10 días del comienzo de los síntomas, continúan elevándose durante, al menos, 8 semanas y persisten durante años. Los anticuerpos contra *Brucella* pueden dar reacción cruzada. El test de ELISA distingue anticuerpos IgA, IgG e IgM, los cuales son detectados más tempranamente que mediante las pruebas de aglutinación.

TRATAMIENTO

La estreptomycin (alternativamente gentamicina) es la droga de elección, aunque se han utilizado tetraciclinas y cloranfenicol.

EPIDEMIOLOGÍA, PROFILAXIS Y CONTROL

Han sido reportados casos en Norteamérica, en muchas zonas de Europa (sobre todo en Escandinavia y Rusia) y en Japón. Parece ser una enfermedad del hemisferio norte. Lo más importante para prevenir la tularemia es evitar el contacto con artrópodos infectados y con los animales reservorios. Deben extremarse las medidas de protección en los trabajadores de laboratorio. Se han desarrollado vacunas de células muertas y vivas atenuadas, para uso del personal expuesto.

PASTEURELLA

Los miembros del género *Pasteurella* son primariamente patógenos de animales, aunque son responsables de una variedad de síndromes en humanos que van desde abscesos localizados hasta septicemia. La clasificación de este género está siendo revisada sobre la base de estudios de hibridización del ADN y una especie ha sido reclasificada dentro del género *Actinobacillus* (*P. ureae*). Siete especies están relacionadas con la enfermedad en humanos (*P. multocida*, *P. dagmatis*, *P. gallinarum*, *P. pneumotropica*, *P. haemolytica*, *P. aerogenes* y *Actinobacillus*, anteriormente *Pasteurella ureae*, mientras que otras cinco producen enfermedades sólo en animales. *P. multocida* es la especie más relacionada con infecciones en humanos, descrita por Pasteur como causa del cólera aviario (aves de corral) y productora de una septicemia hemorrágica en diversos animales.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Son bacilos gramnegativos, pequeños (0,3 x 0,5-1 μm), fermentativos, inmóviles, que pueden ser pleomórficos en exudados y fluidos como el LCR, con aspecto de *Haemophilus* o de *Neisseria*. Pueden tener cápsula.

Cultivo. Crecen mejor en medios que contienen sangre y en contraste con *Yersinia* y *Francisella*, son oxidasa positiva. No requieren medios especiales y algunas crecen en agar McConkey (*P. aerogenes* y *P. haemolytica*).

Características del crecimiento. La temperatura de crecimiento varía desde 22 hasta 44 °C (óptima 37 °C). Las colonias son usualmente visibles a las 24 horas. Las colonias de *P. multocida* son lisas y grisáceas. Excepto *P. haemolytica*, las demás especies no son hemolíticas. Muchas cepas producen una coloración parda en agar-sangre.

Variaciones. Pueden aparecer variantes lisas y rugosas de *P. multocida*.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Se distinguen cuatro serotipos (A, B, C, D) basados en el polisacárido capsular de cepas aisladas de animales. La cápsula mucoide, de ácido hialurónico en el tipo A, es un importante factor de virulencia y parece actuar como antígeno protector y como inhibidor de la fagocitosis por polimorfonucleares. Con los subcultivos sucesivos, la cápsula se pierde.

TOXINAS Y ENZIMAS

El papel de algunas toxinas en la infección por *P. haemolytica* es aún especulativo. Se señala que una enzima proteolítica actúa sobre la sialoglicoproteína de la membrana del eritrocito y la hace más susceptible a la acción de otras citotoxinas producidas por la bacteria.

PATOGENIA Y DATOS CLÍNICOS

Pasteurella multocida se encuentra formando parte de la flora respiratoria de muchos animales (gatos, perros, ratas, conejos, aves de corral), sin embargo, puede causar hemorragia en ganado vacuno, cólera en aves acuáticas y muchas otras formas de infecciones primarias u oportunistas. Se ha relacionado con la rinitis de los cerdos, aunque en estos casos *Bordetella bronchiseptica* puede desempeñar un papel sinérgico. La manifestación más común de la enfermedad humana es una infección localizada en forma de celulitis o absceso, como consecuencia del rasguño o la mordedura de un perro o un gato. Esta infección puede progresar hasta osteomielitis o artritis. Otras formas menos comunes son: infección pulmonar crónica, meningitis y bacteriemia.

Aunque *P. multocida* puede causar infecciones graves del tracto respiratorio, incluyendo neumonía, enfisema y absceso, es posible hallarla como microorganismo colonizador en personas sanas o con enfermedad pulmonar subyacente. Se señala que las fimbrias o *pili* ejercen un importante papel en la adhesión de *P. multocida* al epitelio respiratorio de los animales, aunque en humanos no se han detectado factores específicos de virulencia. Las demás especies se relacionan con enfermedades de animales y ocasionalmente afectan al hombre. Las excepciones son: *A. ureae*, que sólo ha sido reportada en humanos, y *P. gallinarum*, que hasta el momento ha sido reportada nada más como parte de la flora respiratoria en aves de cría.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Muestras. Dependerán del sitio de la infección (piel, tracto respiratorio, forma sistémica) y consisten en sangre, LCR, secreciones respiratorias, exudado de las lesiones, pus, etc.

Cultivo. Como se ha explicado, *P. multocida* crece en medios habituales de laboratorio y en un rango amplio de temperatura.

Identificación bioquímica. Todas las especies de *Pasteurella* fermentan la glucosa, aunque sólo *P. aerogenes* y *P. dagmatis* producen gas. *P. multocida* se distingue de las demás especies en que produce ornitina-decarboxilasa, indol y ureasa. Todas las especies son oxidasa positiva en presencia de clorhidrato de tetrametil-p-fenilendiamina y todas reducen los nitratos. Algunas cepas son catalasa positiva. *Pasteurella multocida* puede ser clasificada en, al menos, cinco biotipos sobre la base de la fermentación de azúcares.

Identificación serológica. Las especies pueden, también, separarse en cuatro tipos capsulares y en 20 serotipos basados en antígenos somáticos (lipopolisacáridos), que van del 1 al 20. Algunos tipos serológicos y bioquímicos han sido relacionados con ciertas enfermedades en animales; por ejemplo, A:1 y A:3 son agentes causales del cólera aviario. Esta clasificación es útil en Epidemiología, al igual que el fagotipaje.

TRATAMIENTO

Pasteurella multocida es susceptible a la penicilina G (excepto *P. aerogenes*) y sus derivados (ampicilina, carbenicilina, piperacilina). Las drogas semisintéticas antiestafilocócicas, como la nafcilina, no son efectivas. Otras drogas activas *in vitro* son las tetraciclinas, las cefalosporinas de segunda y tercera generaciones, y el cloranfenicol. Son resistentes a los aminoglucósidos, clindamicina, vancomicina y eritromicina. Se supone que otras especies tienen patrones similares de susceptibilidad.

EPIDEMIOLOGÍA, PROFILAXIS Y CONTROL

Cuando la resistencia de los animales es baja, como por ejemplo, en grandes cargamentos para embarques o traslados, así como en infecciones virales intercurrentes, los microorganismos se hacen invasivos, produciendo septicemia fulminante o neumonía. Se han aplicado vacunas de organismos vivos atenuados o muertos en áreas endémicas.

RESUMEN

Los miembros del género *Brucella* son parásitos intracelulares de mamíferos. Se han descrito seis especies (*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis* y *B. neotomae*). Su forma varía desde cocos hasta bacilos de 0,5 x 0,3-0,9 µm de largo. El hombre adquiere la infección a través de la ingestión de leche o sus derivados o de la manipulación de tejidos de animales infectados. La lesión histológica fundamental es el granuloma. Deben tomarse muestras de sangre, médula ósea, ganglios, hueso, hígado, bazo o líquido cefalorraquídeo para cultivo, y suero para pruebas serológicas. Su control radica en evitar la diseminación, erradicar las infecciones en animales, pasteurizar la leche y productos lácteos, y reducir los peligros ocupacionales.

Bordetella pertussis es patógena humana y posiblemente para algunos primates, no se conoce otro reservorio. Hasta la introducción de la vacunación, era considerada una de las enfermedades más frecuentes en la infancia. Se transmite por vía respiratoria a partir de casos clínicos y portadores. Son cocobacilos gramnegativos, cortos, similares a *H. influenzae*. El medio Bordet-Gengou estándar, con antibióticos, es adecuado para su aislamiento. El lavado nasal con solución salina o el hisopado nasofaríngeo son útiles en el diagnóstico. El microorganismo se adhiere a la nasofaringe, se multiplica con rapidez e interfiere con la actividad ciliar. No invade la sangre, las bacterias liberan toxinas que actúan sobre las células superficiales. Presenta una fase catarral y una fase toxémica. En su patogénesis intervienen varios factores, entre los que la toxina pertussis es la más importante. El control de esta enfermedad descansa, primordialmente, en la inmunización de todos los lactantes.

La tularemia es una zoonosis asociada a la exposición a roedores o sus garrapatas. *F. tularensis* puede penetrar a través de abrasiones de la piel durante la manipulación de animales. Este género se diferencia de otros similares en que es oxidasa negativa, requiere cisteína o cistina para el crecimiento, no crece en medios habituales, es aerobio obligado, no requiere CO₂. La tularemia pulmonar es una forma grave de la enfermedad que se produce por la inhalación de aerosoles en el laboratorio o durante la manipulación. Las muestras útiles

para cultivo son biopsias de ganglios, hígado y bazo. Su prevención consiste en evitar el contacto con artrópodos infectados y con los animales que actúan como reservorio.

Los miembros del género *Pasteurella* son patógenos de animales, aunque son causa de varias enfermedades en humanos. *Pasteurella multocida* forma parte de la flora respiratoria de muchos animales, sin embargo, puede causar hemorragia en ganado vacuno, cólera en aves y muchas otras formas de infección. Las muestras dependerán del sitio de la infección y consisten en sangre, LCR, secreciones respiratorias, exudado de las lesiones, pus, etc. Los microorganismos se hacen invasivos cuando desciende la resistencia en los animales (estrés, infecciones virales, etc.).

BIBLIOGRAFÍA

- Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM. (eds). Nelson. Tratado de Pediatría. McGraw-Hill. Interamericana, 15ta ed. Vol II, 1997.
- Benenson, AS: El Control de las Enfermedades Transmisibles en el Hombre. 15ta. ed. Informe Oficial de la Asociación Estadounidense de Salud Pública. Publicación Científica No. 538, Organización Panamericana de la Salud, 1992.
- Clarridge JE. Miscellaneous Gram-Negative Cocccobacilli: *Pasteurella*, *Francisella*, *Bordetella*, and *Brucella*. In: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF *et al.* (eds.). Clinical and Pathogenic Microbiology. 2nd ed. Mosby-Year Book, Inc, 1994.
- Jawetz E, Melnick E, Adelberg A: Manual de Microbiología Médica. 15ta ed. México DF: Ed. 2. El Manual Moderno SA, 1996.
- Robbins JB, Pittman M. *Bordetella*. In: Davis BD, Dulbecco R., Eisen HN, Ginsberg HS (eds.). Microbiology. 4th ed. J.B. Lippincott Company, 1990.
- Romero CR: Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. 2da. ed. México D.F.: Ed. Médica Panamericana, 1999.
- Swartz MN. *Yersinia*, *Francisella*, *Pasteurella*, and *Brucella*. In: Davis BD, Dulbecco R., Eisen HN, Ginsber, HS (eds.). Microbiology. 4th ed. JB Lippincott Company, 1990.

A graphic featuring the word 'Capítulo' in a purple serif font above the number '29' in a larger purple serif font. Both are set against a light yellow, oval-shaped background with a subtle texture. A thin horizontal line extends to the right from the top of the oval.

Capítulo

29

Pseudomonas

Alicia Ma. Martínez Izquierdo

Julián I. Pérez Amarillo

Miriam F. Pérez Monrás

INTRODUCCIÓN

El género *Pseudomonas* pertenece a la familia *Pseudomonaceae*, la cual está integrada por una gran variedad de especies que habitan en el suelo y las aguas estancadas, algunas forman parte de la flora residente del intestino de varias especies de animales y del hombre. Son de vida libre, se encuentran en materiales orgánicos en descomposición y tienen un importante papel en la degradación de dicho material. Ciertas especies son patógenas para el hombre.

Son bacilos gramnegativos, aerobios, no esporulados, móviles; algunos poseen microcápsulas y pigmentos solubles en agua; son bacilos no fermentadores (BNF).

Existen múltiples problemas taxonómicos; por ello, la diferenciación entre la familia *Pseudomonaceae* y otras afines, así como entre los cuatro géneros de esta familia y entre las especies del género, distinguiendo el *Manual Bergey's* 29 perfectamente individualizados y 206 no claramente difundidos. Esto nos da una idea de la complejidad del género.

El Cuadro 29.1 clasifica las *Pseudomonas* basándose en la homología ARNr/ADN y en las características comunes del cultivo, encontrándose cinco grandes grupos causantes de enfermedades en el hombre.

Pseudomonas aeruginosa es el patógeno más importante dentro del género *Pseudomonas*, teniendo en cuenta la cantidad y tipos de infecciones (invasivas y tóxicas) que produce, así como la morbilidad y mortalidad que ocasiona. A partir de la década del 60 se ha incrementado el interés médico por esta especie, al convertirse en uno de los principales agentes causantes de enfermedades adquiridas en el ámbito hospitalario, especialmente en pacientes inmunocomprometidos. Otras especies de *Pseudomonas* causan enfermedades con menos frecuencia, es por ello que haremos énfasis en *Pseudomonas aeruginosa*.

Fue identificada en 1882 por Gessard. Es un organismo ambiental, con requerimientos nutricionales simples. Es un patógeno oportunista que se presenta cuando los mecanismos de defensa del hospedero están alterados, suprimidos o comprometidos, siendo necesaria la presencia de factores predisponentes para que ocurra la infección; entre ellos mencionamos las enfermedades malignas, las quemaduras, las diabetes, pacientes sometidos a la instrumentación o manipulación (cateterizaciones uretrales, traqueotomías, punciones lumbares,

infusiones intravenosas de medicamentos y líquidos) y pacientes con fibrosis quística. En este organismo es inherente la resistencia a la mayoría de los antibióticos, se considera un importante patógeno en la infección intrahospitalaria, reportándose por encima del 20 % de esas infecciones.

Cuadro 29.1 Grupos de *Pseudomonas* según la homología del ARNr

Grupos	Géneros y especies
I. Grupo fluorescente	<i>Ps. aeruginosa</i> <i>Ps. fluorescens</i> <i>Ps. putida</i>
Grupo no fluorescente	<i>Ps. stutzeri</i> <i>Ps. mendocina</i> <i>Ps. alcaligenes</i> <i>Ps. pseudoalcaligenes</i>
II.	<i>Ps. pseudomallei</i> <i>Ps. mallei</i> <i>Ps. cepacia*</i> <i>Ps. picketti</i> <i>Ps. glandioli*</i>
III. (Acidovorax, Comamonas)	<i>A. delafieldii</i> <i>C. acidovorans</i> <i>C. testosteroni</i>
IV.	<i>Ps. diminuta</i> <i>Ps. versicularis</i>
V. <i>Stenotrophomonas</i>	<i>S. maltophilia</i>

*Pertenece en la actualidad al género *Burkholderia*.

Los grupos III y IV corresponden a especies aisladas con poca frecuencia en seres humanos.

Los pacientes hospitalizados se infectan con este microorganismo proveniente de fuentes exógenas y endógenas, pues alrededor de un 5 a un 10 % de las personas lo portan en el tracto respiratorio y gastrointestinal, lo cual aumenta en pacientes hospitalizados; la infección raramente ocurre en aquellos con defensas normales.

Pseudomonas aeruginosa en pacientes con enfermedades crónicas puede mostrar una variante fenotípica mucoide, dada por la síntesis de alginato, el cual está determinado genéticamente y sólo se manifiesta cuando existen daños o deterioro de la estructura orgánica donde se manifieste. En pacientes con fibrosis quística, el deterioro de la función y estructura del pulmón dada por la infección crónica de dicho germen, hace que se manifieste la variedad mucoide. Por encima del 80 al 90 % de estos pacientes desarrollan infecciones crónicas por *Pseudomonas aeruginosa*.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Bacilos gramnegativos rectos o curvos (bastoncillos) que pueden aparecer aislados, en pares o en cadenas, con un diámetro de 0,6 a 2 μm . Son aerobios, no esporulados, móviles. Poseen de 1 a 3 flagelos polares y muchas proyecciones en su pared denominadas fimbrias. Algunos poseen una microcápsula.

Cultivo. *Pseudomonas aeruginosa* es un aerobio obligado, que crece con facilidad en los medios de cultivos y produce, en ocasiones, un olor dulzón, o de uvas. Se desarrolla a temperatura entre 10 y 42 °C, aunque su temperatura óptima de crecimiento es de 35 a 37 °C. Algunas cepas producen hemólisis. Las mismas emiten pigmentos de fenazina en agar nutritivo, después de 24 horas de incubación a 37 °C y posteriormente a temperatura ambiente; los mismos pueden ser azul (piocianina), amarillo verdoso (pioverdina), rojo (piorrubina) y negro (piomelanina). Existe, aproximadamente, un 10 % de *Pseudomonas aeruginosa* que son apigmentadas.

Los cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* pueden mostrar varios tipos de colonias: lisas, rugosas, mucoides, redondas, alargadas, con pigmentos verde metálico y olor dulzón, que presentan, además, características bioquímicas enzimáticas y de susceptibilidad antimicrobiana diferentes.

En pacientes fibroquísticos, las cepas pueden aparecer desde el punto de vista fenotípico con variante mucoide, como resultado de la producción excesiva de alginato (un exopolisacárido), lo cual indica que los cambios estructurales en la zona aislada (pulmón) son crónicos y con mal pronóstico.

Características del crecimiento. *Pseudomonas aeruginosa* crece bien a temperaturas oscilantes entre 37 y 42 °C. El crecimiento a 42 °C con formación de velo en medio líquido, ayuda a distinguirla de otras especies. Produce ácidos de una serie de carbohidratos, pero no de disacáridos en medio OF de Hugh-Leifson, y pigmentos en agar nutriente, sobre todo en medio de King A y King B. La mayoría crece en medios mínimos, sin factores orgánicos de crecimiento, usando los iones amonio como única fuente de nitrógeno y la glucosa como única fuente de carbono y energía. Su metabolismo es estrictamente aerobio.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Poseen antígenos O, H, M. El antígeno somático se denomina O (AgO), el antígeno flagelar se designa con la letra H y el antígeno mucoide, con la letra M.

Tienen *pili* o fimbrias (tipo IV) que se extienden desde la pared celular y permiten la fijación a células epiteliales del hospedero.

Los anticuerpos contra antígenos O, H y los *pili* permiten tipar las cepas con fines epidemiológicos.

El antígeno O está dado por el LPS, el cual está formado por el lípido A (muy tóxico, que comprende la endotoxina), un centro constituido por polisacáridos y por las cadenas laterales largas de oligosacáridos O (específicos de grupo) que es la parte más externa del LPS y permite seroagruparlas.

Las cepas muestran diferencias en el AgO específico (por pérdidas de las unidades iterativas de la cadena larga) durante la infección pulmonar crónica por dicho agente en pacientes con fibrosis quística, expresando entonces un LPS común.

Estudios realizados muestran que el fago libre ocurre en el esputo de los pacientes con fibrosis quística y este ejerce un importante papel en el cambio de serogrupo de cepas monoaglutinables a poliaglutinables y viceversa.

Las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* con diferencia en el AgO son productoras de alginato, el cual es un exopolisacárido, cuya biosíntesis está cromosómicamente regulada y enmarcada en tres locus distintos. Dichos genes están presentes en cepas no mucoides y se expresan desde el punto de vista fenotípico bajo determinadas condiciones como la deshidratación, cambios inflamatorios, limitantes en la temperatura, disminución del pH y cambios osmóticos como: disminución en la concentración de fosfatos, aumento en la concentración de NaCl, MgCl₂, Ca²⁺, Mg²⁺, glicerol o sacarosa), lo que equivale a la disminución de las cadenas largas o específicas del LPS, trayendo consigo que las cepas se transformen en poliaglutinables o no tipables. La síntesis de alginato constituye un importante factor inmunogénico y de virulencia.

TOXINAS Y ENZIMAS. FACTORES DE VIRULENCIA (SE INCLUYEN ENZIMAS EXTRACELULARES, TOXINAS Y COMPONENTES DE LA SUPERFICIE CELULAR)

1. *Pili*: de importancia en la adherencia.
2. *Flagelos*: permiten la motilidad y son inmunogénicos.
3. *Alginato*: permite la adherencia de la bacteria a la célula epitelial, interfiriendo en la actividad fagocítica de los neutrófilos. Induce respuestas inmunes y cambios inflamatorios. Inhibe la quimiotaxis y activación del complemento. Interfiere en la opsonización y favorece la agregación de bacterias sobre las microcolonias mucoides (biofilm).
4. *Sideróforos*: adquisición de Fe.
5. *Proteínas de la membrana externa*: inmunogénicos.

6. *Piocianina* y otros pigmentos fenazínicos: inhiben la movilidad ciliar y la proliferación de linfocitos. Tienen actividad antibiótica. Realzan la liberación de interleuquina 1 y del factor de necrosis tumoral. Estimulan e inhiben la generación de superóxido.
7. *LPS*: actividad endotóxica. Es inmunogénico; modula la función de los neutrófilos; obstaculiza la inducción de anticuerpos. Produce necrosis focal en el sitio de colonización.
8. *Elastasa* (enzima proteolítica): solubiliza la elastina del pulmón; degrada el colágeno I, II y III; activa el factor XII de la coagulación; adhiere e inactiva lisozimas; adhiere IgG, IgA e IgA secretora. Inactiva el complemento; inhibe la quimiotaxis de los polimorfonucleares (PMN); reduce la fagocitosis de los PMN; adhiere elastasa a los PMN; inhibe la proliferación de linfocitos humanos; se adhiere a la interleuquina 2; inhibe la acción de las células killer; se adhiere a los receptores CD4 de los linfocitos. Inactiva el interferón gamma y el factor de necrosis tumoral. Es inmunogénica.
9. *Proteasa alcalina* (enzima proteolítica): inhibe la proliferación de los linfocitos humanos; se adhiere a la IgA; inactiva el complemento; se adhiere a la interleuquina 2; inhibe la activación de las células killer; se adhiere a los receptores CD4 de los linfocitos; inhibe la quimiotaxis de los polimorfonucleares; reduce la fagocitosis de los PMN; degrada e inhibe la activación del interferón gamma; inactiva el factor de necrosis tumoral. Es inmunogénica.
10. *Proteinasa*: estimula la activación de mucina de las células del tracto respiratorio. Inactiva la antitripsina 1.
11. *Leucocidina*: citotóxica para los PMN y linfocitos; daña los capilares pulmonares.
12. *Ramnolipidos* (hemolisinas termoestables): inactivan o destruyen la estructura ciliar. Realzan la liberación de mucinas.
13. *Fosfolipasa C* (hemolisina termolábil): degrada la lecitina (componente importante del surfactante del pulmón). Induce la liberación de histamina (importante mediador anafiláctico). Es inmunogénica.
14. *Lipasa*: inhibe la quimiotaxis de los monocitos.
15. *Exotoxina A*: producto de mayor toxicidad presente en *Pseudomonas aeruginosa*. Inhibe la síntesis de proteínas. Tóxica para los macrófagos. Es inmunogénica.
16. *Slime*: inhibe la fagocitosis por los PMN. Es citotóxico para los leucocitos.
17. β -lactamasa: le confiere resistencia a los antibióticos.
18. *Creatinasa*.
19. *Catalasa*.
20. *Argininhidrolasa*.
21. *Nitrorreductasa*.
22. *Ureasa*.
23. *Fibrinolisisina*.
24. *Colagenasa*.
25. *Toxina eritrodérmica*.
26. *Bacteriocinas*.
27. *Exotoxina S*: inhibe la síntesis proteica; dicho mecanismo no está bien aclarado.

PATOGENIA

La infección por *Pseudomonas aeruginosa* raramente ocurre en personas con defensas normales. Para que la infección se presente deben haber factores predisponentes, como: enfermedades malignas, hematológicas y metabólicas. La infección adquirida en el hospital se observa en pacientes sometidos a procedimiento instrumental o manipulación como en los casos de cateterismo uretral, traqueotomías, punción lumbar e infecciones intravenosas. La susceptibilidad a la infección por *Pseudomonas aeruginosa* aumenta después de tratamiento prolongado con agentes inmunodepresores, corticosteroides, antimetabolitos, antibióticos y radiaciones. La infección puede ser de origen endógeno, pues de un 5 a un 10 % de las personas la portan en el tracto respiratorio y digestivo, por lo que se incrementa cuando las condiciones anteriores están presentes.

Pseudomonas aeruginosa infecta a menudo las heridas quirúrgicas, úlceras de decúbito, abscesos, quemaduras, fístulas con drenajes, infecciones del oído y pulmones de pacien-

tes tratados con antibióticos. Es un patógeno de importancia en el tracto respiratorio de pacientes con fibrosis quística.

En todos estos casos es fundamental el papel de los *pili* o fimbrias, que le permiten adherirse a las células epiteliales y multiplicarse posteriormente, liberando los factores de patogenicidad antes mencionados. El LPS desempeña una función importante en la producción de *shock*, fiebre, oliguria, leucocitosis, leucopenia, coagulación intravascular diseminada y síndrome de insuficiencia respiratoria en adultos.

Pseudomonas aeruginosa causa el 70 % de las otitis externas; es frecuente observarlas en personas que practican natación, aunque también aparecen en personas saludables. Dicho microorganismo puede ser responsable de úlceras corneales previo a un trauma ocular, progresando el cuadro y dando lugar a una panoftalmítis y ceguera. Se asocia, asimismo, con la infección crónica del pulmón en pacientes con fibrosis quística, enfermedad hereditaria caracterizada por una disfunción de las glándulas endocrinas, las cuales secretan un *mucus* muy viscoso que obstruye los conductos secretores y la evacuación de dichos órganos, especialmente los bronquios e intestinos, y los conductos pancreáticos y biliares.

El mecanismo por el cual la *Pseudomonas aeruginosa* inicialmente coloniza el tracto respiratorio de los pacientes con fibrosis quística y luego es aspirado al pulmón, está dado por un tropismo especial de dicho agente, favorecido por las infecciones virales que disminuyen la defensa local, a los trastornos electrolíticos, observándose en dichos pacientes que el transporte de hierro del epitelio respiratorio es anormal, con excesiva absorción de sodio y deficiente regulación de los canales de cloro por carencia de la proteína que regula la conductividad a través de la membrana citoplasmática. Por otra parte, las glicoproteínas del *mucus* de estos pacientes tienen un alto contenido de sulfatos y muy bajo contenido de agua; todas estas alteraciones de las secreciones de estos pacientes hacen que las mismas sean más viscosas e impidan el aclaramiento mucociliar, dañándose el epitelio respiratorio. Otro factor que favorece la infección respiratoria es la disminución en los niveles de complemento.

Todo lo anterior trae consigo una pérdida en la cantidad de fibronectina en las células de la mucosa oral, lo cual expone los receptores celulares para *Pseudomonas aeruginosa* (gangliósidos GM1, azúcares y aminoácidos) y puede mostrar variantes fenotípicas mucoides y no mucoides, estando esto determinado por la síntesis de alginato, que permite la adherencia de la bacteria a la célula epitelial interfiriendo en la actividad fagocítica de los neutrófilos, induciendo respuesta inmune y cambios inflamatorios, inhibiendo la quimiotaxis y la activación del complemento, interfiriendo en la opsonización, favoreciendo la agregación y protección de la bacteria sobre las microcolonias mucoides (biofilm), esto permite a la bacteria ser mil veces más resistente a los aminoglucósidos y β -lactámicos. Todo ello muestra que las variantes fenotípicas mucoides indican infección crónica y mal pronóstico.

Se plantea en la actualidad que *Pseudomonas aeruginosa* invade las células epiteliales de la siguiente manera: *Pseudomonas aeruginosa* induce la expresión en las células epiteliales del tracto respiratorio de CFTR (carencia de una proteína que regula la conductividad de la membrana citoplasmática), el cual tiene alrededor de 720 mutaciones en pacientes con fibrosis quística. CFTR se traslada a la superficie celular, *Pseudomonas aeruginosa* se une a CFTR y es transportada al interior de la célula epitelial favoreciendo su multiplicación a este nivel; el resto de los patógenos del tracto respiratorio de estos pacientes no utilizan esta vía. De esta forma *Pseudomonas aeruginosa* evade los mecanismos de defensa específicos del hospedero.

DATOS CLÍNICOS

Pseudomonas aeruginosa produce infección de las heridas y quemaduras, en las cuales origina un pus de color azul verdoso. Ocasiona meningitis cuando se infiltra por punción lumbar e infección de vías urinarias cuando se infiltra por catéter, instrumentos o en las soluciones de lavado de las vías urinarias.

La infección de vías respiratorias, en especial a causa de respiradores contaminados, provoca neumonía necrosante: reportándose en el 24 % de pacientes hospitalizados con VIH y neumonía bacteriana.

En el aparato digestivo se describe una enterocolitis pseudomembranosa.

Produce, con gran frecuencia, otitis externa leve en los nadadores; puede originar otitis externa invasora (maligna) en pacientes diabéticos.

La infección a nivel ocular produce úlceras corneales y ceguera; por lo general aparece después de la lesión traumática o de procedimientos quirúrgicos.

En lactantes, pacientes inmunodeprimidos y quemados, *Pseudomonas aeruginosa* tiende a invadir la sangre y a originar sepsis mortal. La endocarditis se reporta en sujetos drogadictos, sometidos a transplantes o con válvulas insertadas.

A nivel de la piel provoca necrosis hemorrágica; las lesiones que ocasiona se denominan ectima gangrenoso, caracterizado por lesiones redondas, induradas, de color púrpura, de aproximadamente 1 cm de diámetro con una úlcera central, rodeada de una zona de eritema. Las mismas se localizan con mayor frecuencia a nivel de las nalgas, el perineo y las extremidades.

En pacientes con fibrosis quística provoca destrucción del parénquima pulmonar de forma progresiva, ocasionando la muerte.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Muestras. Dependen del cuadro clínico y del tipo de infección, siendo útiles el pus, la sangre, la orina, el líquido cefalorraquídeo y el esputo.

Frotis. Un frotis coloreado con tinción de Gram muestra bacilos gramnegativos rectos o en forma de bastoncillo, que pueden encontrarse aislados, en pares o en cadenas. Los mismos no tienen características específicas que permitan distinguir entre las *Pseudomonas* contenidas en las muestras y los bastoncillos intestinales o gramnegativos de otros tipos.

Cultivo. *Pseudomonas aeruginosa* crece bien en los medios habituales del laboratorio como agar cetrimida, agar-sangre, agar Mc Conkey, agar SS, en condiciones de aerobiosis, y acepta un rango de temperatura entre 10 y 42 °C, siendo su temperatura óptima de 35 a 37 °C.

Las colonias son redondas, lisas, alargadas, de bordes regulares de color verdoso, con un brillo metálico y olor dulzón; algunas cepas tienen actividad hemolítica en agar-sangre, con un diámetro de 2 mm. Las colonias emiten pigmento de fenazina en agar nutriente, King A y King B a temperatura ambiente (25 °C), que puede ser de color amarillo-verdoso, azul, rojo o negro. Existe alrededor de un 10 % de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* que son apigmentadas. En pacientes con enfermedades crónicas y fibrosis quística se hallan variantes fenotípicas mucoides; son oxidasa y catalasa positivas; móviles; oxidan la glucosa; crecen a 42 °C en medio líquido con formación de velo e hidrolizan la arginina y muestran Kligler alcalino.

Identificación bioquímica comercializada

Entre los sistemas de identificación comerciales tenemos:

1. Sistema API 20 E (BioMérieux-Vitek).
2. Rapid NFT (BioMérieux-Vitek).
3. Unit N/F System (Remel Laboratories).
4. Oxi/Ferm System.
5. The Vitek GNI.
6. The Minitek.

Pruebas serológicas y de tipificación

Estas pruebas son importantes desde el punto de vista epidemiológico, utilizándose combinaciones de dos o más técnicas para estos fines:

1. Serotipaje: se utiliza antígeno somático y antígeno flagelar.

2. Píocinotipia: permite agrupar las cepas en tipos y subtipos, designándose los tipos con números y los subtipos con letras (A-E).
3. Antibiotipo.
4. Biotipo.
5. Fagotipo.
6. Análisis con endonucleasas de restricción y plásmidos.
7. Electroforesis en campo pulsante (PFGE).
8. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).
9. Ribotipaje.
10. Análisis del polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP).

TRATAMIENTO

Es necesario emplear fármacos de forma combinada, pues pueden desarrollar resistencia cuando se usan de forma única.

Deben utilizarse penicilinas activas contra *Pseudomonas aeruginosa* como: ticarcilina, mezlocilina, piperacilina, combinadas con un aminoglucósido: gentamicina, tobramicina, amikacina.

Otros medicamentos eficaces contra *Pseudomonas aeruginosa* son: aztreonam, imipenem, quinolonas (ciprofloxacina) y cefalosporinas (ceftazidima y cefoperazona).

EPIDEMIOLOGÍA

Agente infeccioso: Pseudomonas aeruginosa.

Distribución: mundial, tomando a partir de 1960 gran importancia como patógeno nosocomial.

Reservorio: el hombre lo porta de un 5 a un 10 % en el tracto respiratorio y digestivo, aumentando la incidencia en pacientes hospitalizados; son fuentes inanimadas importantes de este microorganismo los ambientes húmedos de los hospitales tales como: los baños, las piletas de cocina, los humectantes para nebulizadores, las jeringuillas, los utensilios de las salas de hospitales, las soluciones oftálmica y fenólica, los jabones, cremas para las manos, los fórceps, termómetros bucales, los ventiladores respiratorios, etc.

Modo de transmisión: la infección puede provenir de fuentes endógenas y exógenas, debiendo existir factores predisponentes como la inmunosupresión, cateterismo, quemaduras, etc. Las alcantarillas y desechos de animales contaminan, frecuentemente, las aguas potables, que luego actúan como fuentes de diseminación al hombre.

Período de incubación: el agente se presenta como oportunista cuando las condiciones le son favorables, presentando un período de incubación de 2 días a 6 meses, sobre todo, en pacientes con fibrosis quística, en los cuales puede aparecer como colonizante durante largos períodos.

Susceptibilidad: las afecciones por *Pseudomonas aeruginosa* pueden aparecer, aunque con poca frecuencia, en personas sanas. Es común en pacientes con factores predisponentes como: tratamientos prolongados con inmunodepresores, corticosteroides, antimetabolitos, antibióticos y radiaciones. También son susceptibles los pacientes sometidos a procedimientos de instrumentación o manipulación como son: las cateterizaciones uretrales, traqueotomías, punciones lumbares e infusiones intravenosas. Tienen particular susceptibilidad los pacientes con fibrosis quística.

PREVENCIÓN Y CONTROL

Es fundamental el control de las fuentes inanimadas y ambientes húmedos. En pacientes con fibrosis quística, evitar el contacto entre pacientes para que no haya intercambio de cepas.

OTRAS *PSEUDOMONAS* DE IMPORTANCIA CLÍNICA

PSEUDOMONAS CEPACIA

Ha sido aislada en brotes de neumonía nosocomial, en septicemia, infecciones del tracto urinario y en infecciones de heridas.

Los brotes por este microorganismo están dados por el uso de anestésicos, sustancias antisépticas y desinfectantes contaminados, así como de soluciones parenterales. Pueden ocurrir seudobacteriemias cuando se contaminan antisépticos aplicables a la piel.

La adquisición de infecciones en la comunidad es rara, excepto en dos casos reportados: endocarditis por el abuso de drogas intravenosas y dermatitis entre tropas militares adiestradas en áreas pantanosas.

Pseudomonas cepacia se ha asociado, en los últimos años, con infecciones respiratorias en pacientes con fibrosis quística; los aislamientos de este germen muestran la producción de enzimas proteasa y lipasa, y se estudia el papel de estos factores en la producción de enfermedad y el carácter de este agente como patógeno verdadero o como marcador de daño pulmonar severo. Los pacientes con *Pseudomonas cepacia* pueden estar asintomáticos o presentar infección fatal, aguda y fulminante. *Pseudomonas cepacia* es imposible erradicarla de los pulmones de los pacientes con fibrosis quística, probablemente debido a la alta resistencia de este microorganismo a los agentes antimicrobianos.

PSEUDOMONAS FLUORESCENS *Y PSEUDOMONAS PUTIDA*

Estos agentes forman parte de la flora orofaríngea normal. La mayoría de los aislamientos corresponden al tracto respiratorio; con menos frecuencia se aíslan de sangre, líquido cefalorraquídeo, heces fecales, lesiones de piel, urocultivos y heridas.

Se aíslan de varias fuentes en ambientes hospitalarios, incluyendo fuentes de agua, fregaderos, pisos, refrigeradores donde se almacenan productos hemáticos, en soluciones como cloruro de benzalconio y en fluido para nebulizadores ultrasónicos.

Habitualmente son contaminantes ambientales y rara vez patógenos oportunistas. El crecimiento y liberación de endotoxinas por parte de estos microorganismos en alimentos contaminados y productos hemáticos, ha traído como resultado septicemia postransfusional. Pueden ocasionar abscesos, artritis séptica, infecciones del tracto urinario e infecciones de heridas.

PSEUDOMONAS MALLEI

Esta *Pseudomonas* es el agente causal del muermo, una infección equina que puede prevalecer en caballos que son utilizados como transporte civil y militar. En la actualidad esta enfermedad ha sido erradicada, excepto en zonas de Asia, África y Medio Oriente; casos esporádicos muy raros se han reportado en el mundo oriental.

El muermo puede aparecer de tres formas tanto en los animales como en el hombre:

1. Como una septicemia aguda fatal.
2. Como una afección crónica del pulmón.
3. Con múltiples abscesos en piel, tejido celular subcutáneo y linfático.

Las personas adquieren la enfermedad por contacto con secreciones nasales de los caballos infectados, los microorganismos entran al cuerpo a través de abrasiones de la piel, sin embargo, la infección nasal primaria puede ocurrir. La infección adquirida en el laboratorio es posible a través de la inhalación de aerosoles.

PSEUDOMONAS PSEUDOMALLEI

Es el agente causal de la melioidosis, enfermedad similar al muermo de animales y seres humanos; se observa, fundamentalmente, en el sudeste de Asia, siendo un gran problema en Tailandia; es una causa frecuente de septicemia en la comunidad, asociada con una alta mortalidad (68 %).

También es frecuente encontrar esta enfermedad en Sur y Centroamérica, Caribe, la India, África, Australia y algunas islas del Pacífico. La melioidosis se presenta desde una infección inaparente a una infección aguda, subaguda o crónica del pulmón con consolidación de lóbulos superiores y cavitaciones del pulmón, acompañada de septicemia con fiebre y leucocitosis, lo cual trae consigo la diseminación de los microorganismos y la formación de múltiples abscesos en diversos órganos. Puede aparecer lesión supurativa localizada en piel, encéfalo, pulmón, miocardio, hígado y hueso, con la consiguiente bacteriemia.

Pseudomonas pseudomallei ha sido aislada del suelo y las aguas de las regiones antes mencionadas; las personas adquieren el microorganismo a través de abrasiones y heridas contaminadas con tierra, por inhalación de polvo o por ingestión.

PSEUDOMONAS STUTZERI

Este microorganismo ha sido aislado de sangre, líquido cefalorraquídeo, secreciones de oído medio, esputo, orina y heridas. Es ubicuo en suelo, agua, aislándose en equipos de aerosoles, superficies inanimadas y en cosméticos para los ojos.

Se considera una causa de bacteriemia, otitis media, artritis séptica, infecciones del tracto urinario e infecciones posoperatoria y postraumática de las extremidades.

PSEUDOMONAS ALCALIGENES

Se ha aislado de sangre, orina, tracto respiratorio y oído, ocasionando empiema, endocarditis, septicemia neonatal e infecciones oculares.

PSEUDOMONAS DIMINUTA

Se ha aislado de sangre, líquido cefalorraquídeo, orina y esputo.

Pseudomonas gladioli (en la actualidad *Burkholderia gladioli*) se ha aislado del tracto respiratorio de pacientes con fibrosis quística.

PSEUDOMONAS PICKETTII

Se ha aislado de sangre, nasofaringe, orina, heridas, líquido cefalorraquídeo, abscesos, siendo causa de bacteriemia, meningitis y colonización del tracto respiratorio de personas hospitalizadas.

PSEUDOMONAS THOMASII

Se ha reportado su aislamiento en sangre, orina, tracto respiratorio y abscesos, ocasionando bacteriemia después de infusiones intravenosas, infecciones del tracto urinario en pacientes sometidos a instrumentación y colonización del tracto respiratorio en pacientes con ventilación mecánica.

PSEUDOMONAS PSEUDOALCALIGENES

Es agente causal de neumonitis, infección posoperatoria de rodilla, septicemia y meningitis; se reporta en la literatura un caso de infección de útero gestante.

RESUMEN

El género *Pseudomonas* pertenece a la familia *Pseudomonaceae*, el cual contiene una gran variedad de especies de vida libre. Algunos pueden colonizar el tubo digestivo y aparato respiratorio de varias especies de animales y el hombre.

Son bacilos gramnegativos, aerobios, no esporulados, móviles; algunos poseen microcápsulas y producen pigmentos solubles en agua; son bacilos no fermentadores. Se agrupan según la homología ARNr/ADN en cinco grupos, incluyendo el grupo 1 al grupo *fluorescens*, que a su vez incluye a *Pseudomonas aeruginosa*, principal agente patógeno para el hombre e importante microorganismo en la sepsis nosocomial.

Pseudomonas aeruginosa causa afecciones a pacientes inmunocomprometidos o con factores predisponentes como quemados y pacientes sometidos a instrumentación (catéteres uretrales, punciones lumbares y traqueotomías). Es un patógeno de importancia en pacientes con fibrosis quística, y causa, a nivel del pulmón, infección crónica, con pérdida de la estructura anatómica, ocasionando una alta morbilidad y mortalidad. Este microorganismo puede presentar variantes fenotípicas mucoides por la producción de alginato, el cual es un importante factor de virulencia e índice de mal pronóstico. Produce, además, una gran variedad de enzimas, toxinas y componentes de la superficie celular que desempeñan un papel fundamental en la patogenicidad.

El diagnóstico se realiza mediante cultivo e identificación de cepas a través de serotipaje, pirocintipia, antibiograma, biotipo, fagotipaje, análisis con endonucleasas de restricción y plásmidos. Este microorganismo presenta una gran resistencia a las drogas antimicrobianas, recomendándose el uso de fármacos en forma combinada como las penicilinas activas contra *Pseudomonas aeruginosa* (ticarcilina, mezlocilina) con aminoglucósidos; otros medicamentos eficaces son: aztreonam, imipenem, quinolonas y cefalosporinas.

Existen otras especies de *Pseudomonas* que afectan al hombre como son: la *Pseudomonas cepacia* en pacientes con fibrosis quística, que produce una infección aguda fulminante del pulmón; la *Pseudomonas mallei*, agente causal del muermo; y la *Pseudomonas pseudomallei*, causa de melioidosis. Otras *Pseudomonas* se comportan como patógenos oportunistas, con una gran resistencia antimicrobiana.

BIBLIOGRAFÍA

- Arvin AM. *En: Infecciones por Pseudomonas. En: Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM, Nelson WE (eds.). Tratado de Pediatría. 15ta ed. La Habana: Ed. Ciencias Médicas, 1998:933-40.*
- Buttery J, Alabaster S, Heine R, Scott S *et al.* Multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in a pediatric oncology ward related to bath toys. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17:509-13.
- Gilardi GL. *Pseudomonas* and Related Genera. *In: Balows A, Hausler W, Herrman K et al. (eds.). Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. Washington: American Society for Microbiology, 1991:429-41.*
- Hfiby N, Schifftz P (eds.). Pulmonary Infections in Cystic Fibrosis. *Acta Paediatrica Scandinavica* 1982;301:1-132.
- Holmes B, Howard B. No Fermentative Gram Negative Bacteria. *In: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF et al. (eds.). Clinical and Pathogenic Microbiology. 2nd ed. St Louis: Mosby-Year Book, Inc, 1994:337-68.*
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA (eds.). *Pseudomonas* y bacterias gram negativas poco comunes. *Manual de Microbiología Médica. 15ta ed. en español. México: Ed. El Manual Moderno SA, 1996:265-71.*
- Koneman EW, Allen SD, Dowell VR (Jr), Janda W *et al.* (eds.). The nonfermentative gram negative bacilli. *In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 3th ed. Philadelphia: J.B. Lippincott Company, 1988:157-96.*
- Lory S. Pseudomonadales y otros bacilos no fermentadores. *En: Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS (eds.). Tratado de Microbiología Clínica. 4ta ed. Barcelona: Masson SA, 1996:571-5.*
- Milch H, Czirok E, Herpay H *et al.* Genotypic and phenotypic characters and nosocomial significance of bacteria endemic in neonatal intensive care units. *Acta Microbiol Immunol Hung* 1994;41(2):127-51.
- Pier GB. *Pseudomonas aeruginosa*: A Key Problem in Cystic Fibrosis *ASM News* 1998;64(6):339-47.
- Romero Cabello R. *Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. 2da ed. México DF: Ed. Médica Panamericana, 1999:332-5.*
- Silva SA. Bacilos Gram Negativos No Fermentadores. *En: Lobos H, García J (eds.). Procedimientos y Técnicas de Laboratorio. Instituto de Salud Pública de Chile, 1983;vol III:22-38.*
- Stevang S. Lung Infection with Alginate-producing Mucoid *Pseudomonas aeruginosa* in Cystic Fibrosis. *Acta Pathologica Microbiologica et Immunologica Scandinavica* 1992;180(28):1-79.
- Vasil LM. *Pseudomonas aeruginosa*. Biology, mechanisms of virulence, epidemiology. *Pediatrics* 1986;108(5):800-5.
- Walia S, Madhavan T, Williamson T *et al.* Protein Patterns, Serotyping and plasmid DNA profiles in the epidemiologic fingerprinting of *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1988;248-55.



***Acinetobacter* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores**

Alicia Ma. Martínez Izquierdo
Julián I. Pérez Amarillo

INTRODUCCIÓN

El término *no fermentadores* está referido a un grupo de bacilos gramnegativos aerobios, no esporulados, que son incapaces de utilizar hidratos de carbono como fuente de energía o que lo degradan por vía oxidativa más bien que por vía fermentativa.

La gran mayoría de las bacterias gramnegativas no fermentadoras (BNF) se ubican en los ambientes naturales y húmedos de los hospitales, representando aproximadamente el 15 % de todos los aislamientos en los laboratorios de microbiología. Los BNF desempeñan un importante papel no sólo por las infecciones adquiridas en el hospital, sino por su frecuente resistencia a los agentes antimicrobianos, comportándose como patógenos oportunistas en pacientes inmunocomprometidos, sometidos a terapia antimicrobiana, a instrumentación o a intubación.

Los BNF incluyen varios géneros de interés clínico, entre los que citamos:

<i>Achromobacter</i>	<i>Flavimonas</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Acidovorax</i>	<i>Flavobacterium</i>	<i>Psychrobacter</i>
<i>Acinetobacter</i>	<i>Janthinobacterium</i>	<i>Shewanella</i>
<i>Agrobacterium</i>	<i>Kingella</i>	<i>Sphingobacterium</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Methylobacterium</i>	<i>Sphingomonas</i>
<i>Chryseomonas</i>	<i>Moraxella</i>	<i>Stenotrophomonas</i>
<i>Comamonas</i>	<i>Ochrobactrum</i>	<i>Suttonella</i>
<i>Eikenella</i>	<i>Oligella</i>	<i>Weeksella</i>

Las infecciones por BNF están asociadas con el tiempo de permanencia en el hospital, el uso de catéteres urinarios, enfermedades respiratorias crónicas, diabetes mellitus, politraumatismos, enfermedades malignas, tratamiento con nuevos antibióticos y hospitalización en salas de cuidados intensivos.

Entre las bacterias no fermentadoras sólo una, *Pseudomonas aeruginosa*, puede ser considerada un patógeno importante en países desarrollados; sin embargo, otros no

fermentadores, incluyendo *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia* y *Burkholderia cepacia*, pueden causar serias afecciones que exponen al paciente hospitalizado a un serio riesgo, debido a la elevada resistencia intrínseca de estos organismos a los antibióticos, por lo que deben extremarse las medidas de control de las infecciones nosocomiales y el monitoreo constante de la sensibilidad antimicrobiana para el correcto manejo de las infecciones intrahospitalarias y de los pacientes ambulatorios con factores predisponentes para las infecciones por estas bacterias.

Las tres especies de BNF más frecuentemente encontradas en muestras clínicas son: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y *Stenotrophomonas maltophilia*, las mismas representan cerca del 70 % de todos los BNF recobrados en muestras clínicas.

ACINETOBACTER

La nomenclatura del género *Acinetobacter* tiene una larga y compleja historia, durante la cual se han propuesto gran cantidad de sinónimos, siendo los más comunes: *Herella vaginocola*, *Bacterium anitratum*, *Achromobacter anitratum*, *Mima polymorfa* y *Moraxella lwoffii*. En 1971, la Subcomisión Internacional de Taxonomía de *Moraxella* y Bacterias Afines decidió que el género *Acinetobacter* debía componerse de una sola especie llamada *calcoaceticus*. Gilardi dividió la especie en biotipos basados, principalmente, en reacciones hemolíticas, crecimiento en agar Salmonella-Shigella (SS), producción de gelatinasa y de ácido a partir de la glucosa, y se propusieron cuatro biotipos: *A. anitratum*, *A. haemolyticus*, *A. alcaligenes* y *A. lwoffii*.

Los estudios de hibridación del ADN, han mostrado que el género comprende no menos de 17 genespecies, de las cuales unas pocas tienen nombre. A continuación relacionamos el nombre de las genespecies según el grupo genómico:

1. *A. calcoaceticus*.
2. *A. baumannii*.
3. Sin nombre.
4. *A. haemolyticus*.
5. *A. junii*.
6. Sin nombre.
7. *A. johnsonii*.
- 8-9. *A. lwoffii*.

En la actualidad, la terminología ha variado, denominándose *Acinetobacter baumannii* al que previamente se nombró *Acinetobacter calcoaceticus* var. *anitratum*, y *Acinetobacter johnsonii* al que anteriormente se conocía como *Acinetobacter calcoaceticus* var. *lwoffii*. Existen cuatro especies más que incluyen al *A. calcoaceticus*, *A. haemolyticus*, *A. junii* y *A. lwoffii*. *A. baumannii* es la especie aislada con mayor frecuencia asociada a infecciones.

Acinetobacter se incluye en la familia *Neisseriaceae* conjuntamente con *Neisseria*, *Branhamella* y *Moraxella*. Está ampliamente distribuido en el suelo, las aguas y, en ocasiones, se cultiva de las mucosas, las secreciones y la piel, formando parte de su flora normal en un 25 %. Es patógeno oportunista y resistente a una gran variedad de agentes antimicrobianos.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. La morfología celular varía considerablemente, pudiendo observarse formas cocoides, cocobacilares, diplocóccicas, bastoncillos, diplobacilos y algunas formas filamentosas. Son gramnegativos, aerobios estrictos, no esporulados e inmóviles, con un diámetro de 1 a 1,5 μm .

Cultivo. Crecen bien en los medios habituales de laboratorio, en condiciones de aerobiosis, a una temperatura de 37°C y a pH 7.

PATOGENIA

Todas las genoespecies de *Acinetobacter* están ampliamente distribuidas en el suelo y las aguas. Pueden hallarse colonizantes en la mayoría de las regiones de la piel humana, también son comensales en la orofaringe y la vagina. La infección por estos microorganismos se observa en pacientes inmunodeprimidos y con enfermedades debilitantes. Las intubaciones, el uso de catéteres y de dispositivos artificiales, sirven como puerta de entrada a estos gérmenes.

Las neumonías se aprecian en pacientes con traqueotomía o tubo endotraqueal. Las peritonitis se ven en pacientes con diálisis peritoneal; las bacteriemias por este germen se deben al uso de catéter intravenoso.

CUADRO CLÍNICO

Aunque la mayoría de los aislamientos clínicos de *Acinetobacter* reflejan colonización más que infección, esos microorganismos han sido asociados con una variedad de infecciones nosocomiales, incluyendo neumonía, meningitis, infecciones del tracto urinario, infecciones de piel y heridas, y septicemia; la mayoría de estas infecciones se asocian con *A. baumannii* y aparecen en pacientes con enfermedades debilitantes.

Acinetobacter puede, también, ser responsable de neumonía adquirida en la comunidad en personas de mediana edad y ancianos con enfermedades debilitantes crónicas, asociándose con endocarditis en pacientes con válvulas naturales.

Estos microorganismos han sido aislados en una gran variedad de enfermos con septicemia, meningitis, endocarditis, osteomielitis, neumonía, empiema, infecciones del tracto genitourinario, abscesos, infecciones de la uretra, ojos, oídos y piel.

No obstante, la mayoría de las infecciones incluyen compromisos de las defensas del hospedero y se ven en pacientes que han sufrido intubación endotraqueal, diálisis peritoneal o cateterización venosa vesical o central. Diversos equipos de terapia respiratoria como tiendas de nebulización, humectantes de ambientes y respiradores, son reservorios de estos microorganismos y, por consiguiente, son una fuente de infecciones oportunistas y nosocomiales.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Muestras. Dependen del cuadro clínico del paciente. Estas pueden ser: LCR, pus de herida, esputo, orina, secreción endotraqueal y sangre.

Frotis. Se observan formas cocobacilares, o cocos gramnegativos en parejas, aunque también pueden encontrarse formas de bastón y diplobacilos. A nivel de laboratorio es posible hallar formas bacilares en la fase exponencial y formas cocoides en la fase estacionaria.

Cultivo. Estos microorganismos crecen en medios comunes sin enriquecimiento tales como: Mc Conkey, agar SS y agar-sangre a pH 7, así como temperaturas entre 37; 41 y 44°C, lo cual permite, entre otras pruebas fisiológicas, identificar especies. Las colonias son elevadas, cremosas, circulares, lisas, opacas, de bordes enteros, de color blanco-grisáceo, con un diámetro entre 0,5 a 2 mm. Algunas de estas especies producen hemólisis en agar-sangre.

Pruebas fisiológicas. No móviles, oxidasa negativa, catalasa positiva, algunas cepas pueden utilizar la glucosa oxidativamente o ser inertes. Producen Kligler alcalino.

Las pruebas diagnósticas para diferenciar genoespecies se describen en el cuadro 30.1.

Sistemas de identificación comerciales

Entre estos tenemos:

1. API 20 E.
2. Rapid NFT (BioMérieux-Vitek).
3. Oxi/Ferm System.

4. Rapid NF Plus System.
5. MIDI Microbial Identification System (identificación por método molecular con fines epidemiológicos).

Cuadro 30.1. Identificación de genoespecies de *Acinetobacter*

	D-L-lactosa	Acidifican glucosa	Crecimiento a 37 °C	Crecimiento a 41 °C	Crecimiento a 44 °C	Hemólisis	Alginina	Citrato	D-maltosa	Malonato
1. <i>A. calcoaceticus</i>	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+
2. <i>A. baumannii</i>	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
3. Sin nombre	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
4. <i>A. haemolyticus</i>	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-
5. <i>A. junii</i>	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-
6. Sin nombre	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-
7. <i>A. johnsonii</i>	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
8-9. <i>A. lwoffii</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-

Tomado de: Pickett MJ, Hollis DG, Bottone EJ. Ob. cit., p. 415.

TRATAMIENTO

Las drogas empleadas para el tratamiento del género *Acinetobacter* son: carbenicilina, polimixina, aminoglucósidos, trimetoprim-sulfametoxazol, colistina, gentamicina y kanamicina.

EPIDEMIOLOGÍA

Agente infeccioso: *Acinetobacter* y sus 17 genoespecies.

Distribución: mundial, tomando gran importancia como patógeno nosocomial; se encuentra entre los tres BNF de mayor frecuencia en muestras clínicas.

Reservorio: forman parte de la flora normal de la piel en un 25 % de las personas y son comensales de la orofaringe y la vagina. Los mismos están ampliamente distribuidos en el suelo, las aguas y los ambientes húmedos de los hospitales.

Modo de transmisión: para que ocurra transmisión e infección deben existir factores predisponentes como: la hospitalización prolongada, la instrumentación (traqueotomía, uso de catéteres, intubación), enfermedades debilitantes, inmunosupresión, el uso de antibióticos previos, etc. Estos microorganismos se han aislado del agua de vaporizadores y soluciones intrahospitalarias, las cuales se emplean para tratamientos a los pacientes.

Período de incubación: depende de la puerta de entrada y de los factores predisponentes, estimándose un período de incubación de 2 días a una semana.

Susceptibilidad: las afecciones por *Acinetobacter* aparecen en pacientes hospitalizados y en pacientes ambulatorios con enfermedades crónicas y factores predisponentes, considerándose estos microorganismos como patógenos oportunistas con una gran frecuencia en infecciones nosocomiales.

PREVENCIÓN Y CONTROL

Control de fuentes inanimadas y ambientes húmedos. Monitoreo frecuente de la sensibilidad antimicrobiana de estos gérmenes, lo que permitirá un manejo correcto de las infecciones hospitalarias.

ACHROMOBACTER

Incluye los grupos B y E; estos son biotipos distintos de un organismo que deben ser reconocidos como una nueva especie dentro de un nuevo género.

Achromobacter es un organismo descrito por primera vez en 1971; se observa en animales inferiores y organismos de vida libre en la naturaleza; son patógenos oportunistas, asociándose con diversas enfermedades humanas, incluyendo meningitis, septicemia y otitis media; son causa de endocarditis en válvulas artificiales. Pueden formar parte de la flora normal del intestino grueso y se han encontrado en fuentes de agua de los hospitales.

Se ha aislado de gran variedad de fuentes clínicas, incluso sangre, orina, heridas y esputos.

Este microorganismo se caracteriza por oxidar la glucosa, crecer bien en Mc Conkey, ser oxidasa positiva y móvil.

ACIDOVORAX

Este género comprende dos especies: *A. delafieldii* y *A. temperans*. Han sido recobrados ocasionalmente de una gran variedad de especímenes clínicos humanos, sobre todo de sangre, heridas y tracto respiratorio, aunque su significado clínico es desconocido.

Se caracterizan por oxidar la glucosa, crecer bien en Mc Conkey, ser oxidasa positiva y móviles.

AGROBACTERIUM

Consta de una sola especie: *A. radiobacter*. Este organismo, en ocasiones, se ha encontrado en especímenes clínicos, pero raramente se ha reportado su significado clínico. Se ha descrito como una causa de endocarditis bacteriana en pacientes con prótesis valvular y como causa de septicemia y peritonitis.

Se caracteriza por oxidar la glucosa, crecer bien en Mc Conkey, ser oxidasa positiva y móvil.

ALCALIGENES

Incluye cuatro especies: *A. faecalis*, *A. piechaudii*, *A. xylosoxidans* ssp. *denitrificans* y *A. xylosoxidans* ssp. *xylosoxidans*. Pueden formar parte de la flora normal. Se han aislado de nebulizadores, respiradores y sistemas de diálisis renal.

Alcaligenes faecalis es la especie más frecuente del género. Dicho microorganismo ha sido recobrado de sangre, esputo y orina, asociándose con septicemias nosocomiales; se atribuye a la contaminación de fluidos nosocomiales y soluciones intravenosas. Este agente es aislado, primariamente, de orina, pero también de secreciones del oído, heces, esputos y heridas.

Alcaligenes xylosoxidans ssp. *denitrificans* se ha recuperado de sangre, LCR, orina y secreciones del oído.

Alcaligenes xylosoxidans ssp. *xylosoxidans* se ha aislado en una gran variedad de especímenes clínicos que incluyen sangre, secreciones del oído, esputo, orina y heridas. Este microorganismo es un patógeno oportunista que ha sido asociado a casos de meningitis con linfadenopatía cervical, neumonías y ventriculitis después de intervención por neurocirugía.

Se caracteriza por oxidar raramente la glucosa, crecer bien en Mc Conkey, ser oxidasa positiva y móvil. No metaboliza los carbohidratos habituales, pero oxida aminoácidos y ácidos orgánicos, alcalinizando el medio de cultivo.

CHRYSEOMONAS

Consiste en una sola especie: *C. luteola*. Se encuentra rara vez en muestras clínicas, aunque se ha aislado en abscesos y heridas; es causa de bacteriemia en pacientes con enfermedades críticas y causa de peritonitis en pacientes con diálisis peritoneal ambulatoria. También ha sido implicado en endocarditis de pacientes con prótesis valvular y en abscesos subdiafragmáticos.

Se caracteriza por oxidar la glucosa, crecer bien en Mc Conkey, ser oxidasa negativa y móvil.

COMAMONAS

Comprende tres especies: *C. acidovorans*, *C. terrigena* y *C. testosteroni*. Ocasionalmente se han encontrado en abscesos, sangre, heridas y orina; rara vez causan septicemia.

Se caracterizan por no oxidar la glucosa, crecer bien en Mc Conkey, ser oxidasa positiva y móviles.

EIKENELLA

Consta de una sola especie: *E. corrodens*. Es parte de la flora normal de las membranas mucosas, especialmente de la orofaringe y tracto digestivo del 40 al 70 % de los humanos. La pérdida de la continuidad del tejido por trauma y la cirugía predisponen a las infecciones. Los microorganismos pueden pasar a zonas continuas o entrar al torrente sanguíneo y ser distribuidos a otras partes del cuerpo.

Este microorganismo se ha aislado en cultivo puro de pacientes con endocarditis, meningitis, abscesos, empiema subdural e infecciones del cuello. Muchos de esos pacientes han estado inmunocomprometidos.

Se caracterizan por oxidar la glucosa, no crecer en Mc Conkey, ser oxidasa positiva y no móviles.

FLAVIMONAS

Este género incluye una sola especie: *F. oryzihabitans*. Se encuentra raramente en materiales clínicos y con frecuencia se ha visto en abscesos y heridas; ha sido reportada como una causa de bacteriemia en pacientes neuroquirúrgicos e inmunocomprometidos. Las peritonitis y las infecciones del Sistema Nervioso Central también se han asociado con dicho microorganismo.

Se caracteriza por oxidar la glucosa, crecer bien en Mc Conkey, ser oxidasa negativa y móvil.

FLAVOBACTERIUM

Comprende varias especies: *F. breve*, *F. gleum*, *F. indologenes*, *F. meningosepticum*, *F. mizutaii*, *F. odoratum*, *F. thalophilum*, *F. yabuuchiae*, CDC IIc, CDC IIe, CDC IIIh, CDC IIIi.

El género *Flavobacterium* pocas veces es aislado de muestras clínicas, con excepción del *F. meningosepticum*; en general, la patogenicidad de estos microorganismos es baja o cuestionable.

Flavobacterium meningosepticum es causa de meningitis neonatal, especialmente en prematuros, y la mayoría de los sobrevivientes desarrolla hidrocefalia. Se ha asociado a empiemas, septicemias y meningitis con un alto índice de mortalidad. Ha sido responsable de neumonías en niños y adultos, y de infecciones cutáneas.

Flavobacterium indologenes se ha observado en casos sumamente raros de meningitis y septicemia.

Flavobacterium odoratum ha sido recobrado del tracto urogenital, teniendo poco significado clínico.

Flavobacterium thalpophilum se ha asociado a heridas en las piernas después de accidentes de tráfico.

El significado clínico de los grupos sin nombre es desconocido, aunque las cepas CDC IIe se han recuperado de sangre, orina y genitales; CDC IIIh ha sido aislada de animales y el hombre, y en estos últimos proveniente de líquido cefalorraquídeo y de secreciones de oídos. CDC IIIi ha sido recobrada de sangre, heridas y orina.

Los *Flavobacterium* son bacilos gramnegativos delgados que se caracterizan por oxidar la glucosa, crecer pobremente en Mc Conkey, ser oxidasa positiva y no móviles.

JANTHINOBACTERIUM

Este género consiste en una sola especie: *J. lividum*. No ha sido reportada como causa de infecciones humanas. No crece a temperatura de 32 °C y sí a temperaturas bajas de 2 °C, encontrándose en productos refrigerados como la sangre almacenada. La transfusión con este producto contaminado a un paciente, puede dar como resultado shock por bacilo gramnegativo.

Este microorganismo se caracteriza por oxidar la glucosa, la mayoría de las cepas crecen pobremente en Mc Conkey, son oxidasa positiva y móviles.

KINGELLA

Este género consta de dos especies: *K. denitrificans* y *K. kingae*. La primera ha sido reportada como causa de endocarditis y la segunda es la especie más frecuente dentro del género, aunque no es común encontrarla en especímenes clínicos, siendo flora transitoria del tracto respiratorio superior y un patógeno oportunista con potencial de patogenicidad, asociándose con casos de endocarditis, artritis, osteomielitis, infecciones de los tendones y septicemia. Estas infecciones se han detectado en niños sanos e inmunocomprometidos.

Kingella, aunque es un bacilo gramnegativo, puede presentar formas cocobacilares y diplocóccicas. Se caracteriza por fermentar tardíamente la glucosa, no crecer en Mc Conkey, ser oxidasa positiva y móvil.

METHYLOBACTERIUM

Incluye una sola especie: *M. mesophilicum*. Se observa en muestras clínicas de pacientes inmunodeprimidos, siendo reportado como causa de bacteriemia y peritonitis. Se ha cultivado en sangre de pacientes con trasplante de médula ósea.

Se caracteriza por oxidar la glucosa o ser inerte, no crecer en Mc Conkey, ser oxidasa positiva y móvil.

MORAXELLA

Este género comprende varias especies: *M. anatipestifer*, *M. atlantae*, *M. bovis*, *M. catarrhalis*, *M. lacunata*, *M. nonliquefaciens*, *M. osloensis* y *M. phenylpyruvica*.

Son miembros de la flora normal de las vías respiratorias superiores humanas. Las infecciones por estos microorganismos pueden ser vistas en pacientes inmunocompetentes fuera del ambiente hospitalario.

Moraxella atlantae ha sido aislada de muestras de sangre y LCR, aunque su patogenicidad es desconocida.

Moraxella lacunata se ha asociado a conjuntivitis.

Moraxella nonliquefaciens se ha encontrado como parte de la flora del tracto respiratorio. Rara vez se ha asociado a meningitis, endocarditis, bronquitis e infecciones oculares.

Moraxella osloensis es parte de la flora del tracto genitourinario, de la piel y del tracto respiratorio superior. Causa con poca frecuencia enfermedad, aunque se ha asociado a pacientes con artritis séptica, meningitis, uretritis, bacteriemia, osteomielitis y endocarditis.

El género *Moraxella* en los frotis puede aparecer como bacilos, cocobacilos o cocos gramnegativos pequeños, confundiendo con *Acinetobacter*.

Estos microorganismos se caracterizan por no oxidar la glucosa, el crecimiento en Mc Conkey varía con las especies, son oxidasa positiva y no móviles.

OCHROBACTRUM

Consiste en una sola especie: *O. anthropi*. Se ha aislado de muestras de sangre, tracto respiratorio, tracto urinario y menos frecuentemente de heces fecales y heridas. Se ha asociado con abscesos pancreáticos y osteocondritis a nivel de los pies.

Estos microorganismos se caracterizan por oxidar la glucosa, crecer bien en Mc Conkey, ser oxidasa positiva y móviles.

OLIGELLA

Dicho género consta de dos especies: *O. ureolytica* y *O. urethralis*. La primera se ha asociado con infecciones del tracto genitourinario y el oído, mientras la segunda se ha aislado de muestras de sangre y orina.

Estos microorganismos se caracterizan por no utilizar la glucosa, por crecer bien en Mc Conkey, ser oxidasa positiva y la movilidad varía de una especie a otra (una móvil y la otra no).

PSYCHROBACTER

Este género incluye una sola especie: *P. immobilis*, la cual se ha reportado como causa de conjuntivitis purulenta nosocomial en neonatos con sífilis congénita, así como de meningitis en recién nacidos.

Este microorganismo se caracteriza por oxidar la glucosa, crecer pobremente en Mc Conkey, ser oxidasa positiva y no móvil.

SHEWANELLA

Comprende una sola especie: *S. putrefaciens*, que se ha hallado de forma ocasional en muestras de sangre, LCR y heridas, reportándose como causa de otitis media y externa en pacientes diabéticos; es causa de úlceras purulentas de la piel.

Se caracteriza por utilizar la glucosa (unas cepas la utilizan y otras no), crecer bien en Mc Conkey, ser oxidasa positiva y móvil.

SPHINGOBACTERIUM

En este género se incluyen dos especies: *S. multivorum* y *S. spiritivorum*. La primera se ha asociado con raros casos de peritonitis.

Este microorganismo se caracteriza por oxidar la glucosa, no crecer en Mc Conkey, ser oxidasa positiva y algunas cepas ser móviles.

SPHINGOMONAS

Consiste en una sola especie: *S. paucimobilis*. Se ha aislado de sangre, LCR y heridas. Se ha asociado a bacteriemia seguida de cirugía por enfermedad vascular oclusiva en extremidades inferiores, a úlceras de la piel seguidas de traumas y a meningitis.

Este microorganismo se caracteriza por oxidar la glucosa, no crecer en Mc Conkey, ser oxidasa positiva y ocasionalmente móvil.

SUTTONELLA

Este género consta de una sola especie: *S. indologenes*. Este microorganismo se ha aislado de lesiones oculares. Se caracteriza por fermentar lentamente la glucosa, no crecer en Mc Conkey, ser oxidasa positiva y móvil.

WEEKSELLA

Este género comprende dos especies: *W. virosa* y *W. zoohelcum*. La primera se ha aislado del tracto urogenital femenino, reportándose su incidencia en la población femenina en alrededor de un 2 %; se incrementa con el número de compañeros sexuales, por lo que se sugiere que puede ser transmitida por esta vía. La segunda es común hallarla en la mucosa oral y nasal de los perros; el humano adquiere este microorganismo por mordedura o arañazos de perros y gatos; es causa de meningitis en niños.

Este microorganismo se caracteriza por utilizar la glucosa, su crecimiento en Mc Conkey varía con las especies, es oxidasa positiva y no móvil.

STENOTROPHOMONAS

Este microorganismo se encuentra entre los tres BNF que con mayor frecuencia se reportan de muestras clínicas, es por ello que lo abordaremos con mayor profundidad.

Después de un largo período con un *status* taxonómico incierto, el bacilo gramnegativo no fermentador que previamente se denominó *Pseudomonas maltophilia* y con posterioridad *Xantomonas maltophilia*, ha sido reclasificado como *Stenotrophomonas maltophilia*. Este microorganismo se describía con baja patogenicidad, observándose en la actualidad como un importante patógeno nosocomial, sobre todo, en pacientes debilitados e inmunocomprometidos.

Stenotrophomonas maltophilia fue propuesta en 1993 y es el único miembro del género *Stenotrophomonas* (del griego *stenos*, estrecho, angosto; *tropho*, uno que alimenta; *monas*, monarquía, una unidad).

MORFOLOGÍA

Son bacilos rectos o ligeramente curvos que pueden agruparse en pares u observarse como formas simples, gramnegativos, no esporulados, con una longitud de 0,5 a 1,5 μm , móviles y aerobios obligados.

CARACTERÍSTICAS DEL CULTIVO

Crece a 35 °C en aerobiosis; las colonias son lisas, destellantes, con bordes enteros, de color blanco o amarillo pálido; algunas cepas pueden producir hemólisis en placas de agar-sangre. Crece bien en Mc Conkey.

CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS

Son oxidasa negativa, catalasa positiva, móviles a 18 °C y variables a 37 °C; producen lisina descarboxilasa; hidrolizan la esculina, la gelatina, el tween 80 y la DNAsa.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA Y ENZIMAS EXTRACELULARES

Posee antígeno somático O, describiéndose 31 antígenos de este tipo, y antígenos flagelar H.

Entre las enzimas extracelulares que produce están: DNAsa, RNAsa, fibrinolisisina, hialuronidasa, proteasa y elastasa.

FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A INFECCIONES POR *S. MALTOPHILIA*

1. Tratamiento prolongado con antibióticos.
2. Presencia de catéter venoso central.
3. Quimioterapia citotóxica o neutropenia.
4. Hospitalización prolongada.
5. Hospitalización en sala de cuidados intensivos.
6. Ventilación mecánica o traqueotomía.
7. Enfermedades debilitantes.
8. Tumores malignos.
9. Enfermedades hematológicas malignas.
10. Terapia con esteroides.

DATOS CLÍNICOS

Este microorganismo se ha reportado asociado a bacteriemia, endocarditis, infecciones del tracto respiratorio superior relacionado con ventilación mecánica, traqueotomía o tratamiento prolongado con antibióticos.

Se ha asociado, también, a infecciones del Sistema Nervioso Central en neonatos y niños pequeños donde aparece espontáneamente, mientras que en los adultos es secundaria a procedimientos neuroquirúrgicos.

Se han descrito infecciones oftalmológicas como conjuntivitis, queratitis y úlcera corneal.

Las infecciones del tracto urinario son secundarias a la instrumentación; se describen peritonitis en pacientes con diálisis peritoneal ambulatoria. Causa, además, uretritis, absceso periuretral y epididimitis.

Puede ocasionar lesiones de piel y tejidos blandos, infecciones óseas y gastrointestinales.

TRATAMIENTO

Este microorganismo es resistente a un gran número de agentes antimicrobianos, reportándose sensibilidad a: moxalactam, doxiciclina, minociclina, ciprofloxacina, colistina, polimixina B y sulfametoxazol-trimetoprim.

RESUMEN

Los BNF no son más que un grupo de bacilos gramnegativos, aerobios, no esporulados, incapaces de utilizar los hidratos de carbono como fuente de energía o que los degradan por vía oxidativa más bien que por vía fermentativa.

Estos microorganismos tienen una gran importancia como patógenos nosocomiales, encontrándose alrededor de 26 géneros con mayor frecuencia en muestras clínicas, dentro de estos: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y *Stenotrophomonas maltophilia* son las especies con mayor peso en sepsis nosocomial.

Acinetobacter como género se ha clasificado basándose en la hibridización del ADN en 17 genoespecies, de las cuales seis tienen nombre: *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. junii* y *A. lwoffii*, siendo la más común *A. baumannii*.

Por su parte, *Stenotrophomonas maltophilia* se consideraba en la antigüedad como *Pseudomonas maltophilia* y *Xantomonas maltophilia*, siendo reclasificada como *Stenotrophomonas* con una sola especie: *S. maltophilia*, germen que se estimaba con baja patogenicidad y que en la actualidad aparece con gran frecuencia en pacientes hospitalizados y ambulatorios con factores predisponentes como son: el uso previo de antibióticos y esteroides, la traqueotomía, los catéteres venosos, la inmunodepresión, etc.

En general, los BNF están ampliamente distribuidos en el suelo, las aguas y los ambientes húmedos de los hospitales, reportando resistencia a una gran variedad de agentes antimicrobianos, por lo que su tratamiento se torna difícil.

BIBLIOGRAFÍA

- Bouvet PJM, Grimont PAD. Taxonomy of the Genus *Acinetobacter* with the Recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov; and *Acinetobacter junii* sp. nov; and Emended Descriptions of *Acinetobacter lwoffii*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1986;36(2):228-40.
- Delton M, Kerr KG. Microbiological and Clinical Aspects of Infection Associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clinical Microbiology Reviews* 1998;11(1):57-80.
- Gardner P, Griffin W, Swartz M, Kunz L. No Fermentative Gram-negative Bacilli of Nosocomial Interest. *The American Journal of Medicine* 1970;48:735-49.
- Holmes B, Howard B, Barbara BJ. No Fermentative Gram- negative Bacteria. *In: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF et al. (eds.). Clinical and Pathogenic Microbiology. 2nd ed. St Louis: Mosby-Year Book, Inc, 1994:243-56.*
- Holt JB, Bryant MP, Krieg NR, Lapage SP *et al.* Gram-negative cocci and coccobacilli. *The Shorter Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th ed. Baltimore: Md, Waverly Press, Inc, 1977:169.*
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA (eds.). *Pseudomonas y bacterias gramnegativas poco comunes. En: Manual de Microbiología Médica. 15ta ed. en español. México: Ed. El Manual Moderno SA, 1996: 265-71.*
- Koneman EW, Allen SD, Dowell VR (Jr), Janda WM *et al.* (eds.). *The Nonfermentative Gram-negative Bacilli. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 3rd ed. Philadelphia: JB Lippincott Company, 1988:311-53.*
- Lory S. Pseudomonadales y otros bacilos no fermentadores. *En: Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS (eds.). Tratado de Microbiología Clínica. 4ta ed. Barcelona: Masson SA, 1996:571-5.*
- Merino LA, Ronconi MC, Marín M *et al.* Bacilos Gram-Negativos No Fermentadores. Distribución en Materiales Clínicos y Susceptibilidad Antimicrobiana. *Revista Latino-Americana de Microbiología* 1999;41:279-84.
- Pickett MJ, Hollis DG, Bottone EJ. Miscellaneous Gram-negative Bacteria. *In: Balows A, Hausler BB, Hermann K et al. (eds.). Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. Washington: American Society for Microbiology 1991:429-41.*
- Rubyn SJ, Granato PA, Wasilanskas BL. Bacterias gram-negativas que no fermentan la glucosa. *En: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ (Jr), Truat JP (eds.). Manual de Microbiología Clínica. 3ra ed. La Habana: Ed. Científico-Técnica, 1982:329-89.*

A graphic featuring a light-colored, textured oval shape. Inside the oval, the word "Capítulo" is written in a purple, serif font at the top, and the number "31" is written in a larger, purple, serif font below it. A horizontal purple line extends from the right side of the oval across the page.

Capítulo

31

Legionelas

Miriam F. Pérez Monrás

INTRODUCCIÓN

Estos microorganismos son parásitos de los organismos unicelulares en la naturaleza e invasores oportunistas de las células fagocíticas en el ser humano. Se hallan en una gran variedad de hábitat acuáticos naturales y en los sistemas de distribución de agua creados por el hombre. Se trata de microorganismos exigentes y su aislamiento del agua o de los tejidos infectados requiere medios de cultivo especialmente formulados. El mecanismo de transmisión desde las fuentes ambientales contaminadas a los seres humanos es incierto, pero, cuando estos microorganismos se depositan en los espacios aéreos de los pulmones pueden producir una forma severa de neumonía denominada enfermedad de los legionarios. Dado que esta infección a menudo se asocia con sistemas de agua contaminados, pueden originarse grandes epidemias institucionales de la enfermedad de los legionarios, por ejemplo, en los hospitales y en los hoteles.

Desconocida como especie bacteriana hasta 1976 se aísla por primera vez, al producirse una epidemia de enfermedad de los legionarios entre los asistentes a una convención de la Legión Americana en Filadelfia. En total enfermaron 182 asistentes y murieron 29. Investigadores de los *Centers for Disease Control* descubrieron el patógeno bacteriano por medio de la inoculación de tejido pulmonar de los pacientes en la cavidad peritoneal de cobayos; además, que el agente podía pasarse a la yema de huevo y, finalmente, a medios artificiales suplementados. Poco después se desarrollaron métodos de cultivo y serológicos para facilitar el diagnóstico clínico de la enfermedad de los legionarios y las especies de *Legionella* fueron reconocidas como una causa significativa de neumonía en muchas partes del mundo.

El brote ampliamente publicado de neumonía que ocurrió en personas que asistieron a una convención de la legión estadounidense en Filadelfia en 1976, precipitó la ejecución de investigaciones que definieron a *Legionella pneumophila* y a otras legionelas. Se han diagnosticado de manera retrospectiva otros brotes de enfermedad respiratoria producidos por microorganismos relacionados en 1947. Existen, por lo menos, 22 especies de *Legionella*, algunas con serotipos múltiples.

Legionella pneumophila es la causa principal de enfermedad en el hombre, a veces ocasiona también neumonía *Legionella micdadei*.

Las otras legionelas se aíslan rara vez de los pacientes o se han aislado sólo a partir del medio.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Legionella pneumophila es la bacteria prototipo del grupo (Cuadro 31.1).

Cuadro 31.1. Especies de *Legionella* de importancia médica primaria

Especie	Neumonía	Fiebre de Pontiac
<i>L. pneumophila</i>	+	Serogrupos 1 y 6
<i>L. micdadei</i>	+	
<i>L. gormanii</i>	+	
<i>L. dumoffi</i>	+	
<i>L. bozemanii</i>	+	
<i>L. longbeachae</i>	+	
<i>L. wadsworthii</i>	+	
<i>L. jordanis</i>	+	
<i>L. feeleii</i>	+	+
<i>L. oakridgensis</i>	+	

Tomado de: Jawetz E, Melnick J, Adelberg A. Microbiología Médica. 15ta ed. Traducida de la 20ma edición en inglés. Ed. El Manual Moderno. Capítulo 26. Micoplasmas. 1996:369-73.

Microorganismos típicos. Las legionelas son bacterias gramnegativas aerobias muy exigentes que tienen 0,5 a 1 μm de ancho y 2 a 50 μm de largo. A menudo se tiñen mal por el método de Gram y no se observan en las coloraciones de las muestras clínicas. Deben efectuarse frotis teñidos por el método de Gram cuando se sospecha crecimiento de *Legionella* en medios de agar. Se usará fucsina básica (0,1 %) como contracoloración, porque la safranina tiñe las bacterias muy pobremente.

Cultivo. *L. pneumophila* no crece en los medios bacteriológicos de rutina. Se ha ideado un medio especial para cubrir las peculiares necesidades nutricionales de este microorganismo. La bacteria requiere niveles altos de cisteína y suplementos de hierro inorgánico para el crecimiento óptimo. La concentración de sodio debe mantenerse baja y agregarse carbón activado para absorber las sustancias inhibitoras presentes en los medios.

En la naturaleza se hallan en los estanques, los lagos y las aguas termales, donde consiguen alimentarse con la materia orgánica generada por las algas fotosintéticas y otras formas de vida vegetal. Constituyen el alimento de los protozoarios. Pueden sacar provecho de esto, pues tienen la posibilidad de crecer en gran cantidad dentro de estos organismos unicelulares en lugar de ser destruidas y digeridas como otras bacterias.

Crece a temperaturas de hasta 46 °C, toleran temperaturas mucho más altas y son relativamente resistentes al cloro en comparación con las bacterias entéricas.

Se pueden desarrollar en medios complejos como agar con extracto de levadura y carbón animal amortiguado (BCYE, del inglés *buffered charcoal yeast extract*), con alfa-cetogluturato a pH 6,9, temperatura de 35 °C y 90 % de humedad. Es factible añadir antibióticos para hacer el medio selectivo para *Legionella*, así como utilizar un medio BCYE bifásico para los hemocultivos.

Las especies de *Legionella* crecen con lentitud. Suelen observarse colonias visibles después de 3 días de incubación. Las colonias que aparecen después de la incubación durante la noche no son de *Legionella*. Son redondas o planas, o tienen bordes íntegros. Su color varía desde ninguno hasta sonrosado o azul iridiscentes y son translúcidas o moteadas. Es común la variación en la morfología de las colonias y estas pueden perder con mucha rapidez su color y sus motas.

En hemocultivo, estos microorganismos suelen requerir 2 o más semanas para crecer. Se pueden observar colonias sobre la superficie del agar del medio bifásico.

Características del crecimiento. Las legionelas son microorganismos positivos a la catalasa. *L. pneumophila* es positiva a la oxidasa; las otras legionelas son variables en cuanto a su actividad con la oxidasa. *L. pneumophila* hidroliza el hipurato, no así las otras legionelas. La mayor parte de estos microorganismos producen gelatinasa y β -lactamasa.

ANTÍGENOS Y PRODUCTOS EXTRACELULARES

Existen más de 10 serogrupos de *L. pneumophila*; el serogrupo 1 fue la causa del brote de 1976 de la enfermedad de los legionarios y sigue siendo el serogrupo que se aísla más a menudo a partir del ser humano. Las especies de *Legionella* no se pueden identificar mediante seroagrupación nada más, porque existe antigenicidad reactiva cruzada entre ellas.

Las legionelas producen ácidos grasos de cadena ramificada de 14 a 17 carbonos que son distintivos. Se usa cromatografía de gas y líquido para ayudar a caracterizar y determinar las especies de legionelas.

Estos microorganismos elaboran proteasas, fosfatasa, lipasa, DNAsa y RNAsa. Una proteína secretoria importante, metaloproteasa, tiene actividad hemolítica y citotóxica, sin embargo, no se ha demostrado que esta proteína sea un factor necesario de virulencia. Se ha descrito una hemolisina y una citotoxina. No están bien caracterizadas las toxinas ni su mecanismo de acción.

PATOLOGÍA Y PATOGENIA

Las legionelas habitan ambientes húmedos y cálidos. Pacientes debilitados o inmunodeprimidos adquieren la infección inhalando las bacterias de aerosoles generados en sistemas de aire acondicionado, cabezales de regaderas y otras fuentes semejantes.

Legionella pneumophila produce una infiltración pulmonar lobar segmentaria o en placas.

En cortes histológicos, la apariencia es semejante a la producida por muchos otros patógenos bacterianos. El conocimiento de la patogenia de la infección con *L. pneumophila* proviene del estudio de células aisladas del hombre y de investigaciones en animales susceptibles como los cobayos. Una vez en el interior de la célula, las bacterias en forma individual quedan dentro de vacuolas fagocitarias, pero los mecanismos de defensa de los macrófagos se detienen en ese punto. Los fagosomas que contienen *L. pneumophila* no se acidifican tanto como los que contienen partículas ingeridas. Las bacterias se multiplican dentro de las vacuolas hasta que son numerosas; las células se lisan, las bacterias se liberan y luego infectan a otros macrófagos. La presencia de hierro (hierro-transferrina) es esencial para el proceso de crecimiento intracelular del microorganismo, pero otros factores importantes para los procesos de proliferación, destrucción celular y lesión hística no se comprenden del todo.

Para crecer en las células fagocíticas, los patógenos deben ser mejores estrategias que sus huéspedes. Deben evadir las defensas antimicrobianas con las cuales están armadas estas células y satisfacer sus requerimientos nutricionales por medio de la competencia exitosa con las células del hospedero por los nutrientes intracelulares esenciales. Las legionelas y algunos otros patógenos no relacionados permanecen dentro de los endosomas unidos a la membrana después de la ingesta.

Las legionelas son ingeridas de forma espontánea por las células fagocíticas; el mecanismo molecular que desencadena la fagocitosis no se conoce. Después de la ingesta, se inhibe la acidificación normal de los fagosomas y la fusión con los lisosomas. Dentro de los endosomas especializados la multiplicación bacteriana prosigue hasta que la célula se llena literalmente de bacterias. Finalmente, la célula muere y se rompe, liberando a la progenie bacteriana que puede reiniciar el ciclo en otras células.

Los macrófagos infectados por *L. pneumophila* liberan citoquinas que pueden contribuir al flujo de los monocitos y los neutrófilos de la sangre hacia los espacios aéreos de los pulmones. Se producen microabscesos y pueden coalescer para formar cavidades. Los bronquios y los bronquiolos no son afectados. Durante la infección manifiesta es posible aislar a *L. pneumophila* de la sangre o de una variedad de tejidos.

DATOS CLÍNICOS

Es común la infección asintomática en todos los grupos de edad, a juzgar por los títulos elevados de anticuerpos específicos. La frecuencia de enfermedad clínicamente importante es más elevada en los varones de más de 55 años.

La legionelosis debe incluirse en el diagnóstico diferencial de pacientes inmunodeprimidos que presentan fiebre e infiltrados pulmonares; pacientes que desarrollan una neumonía que no responde a penicilinas, cefalosporinas o aminoglucósidos; o cualquier paciente con una neumonía grave. En pacientes en hemodiálisis y con trasplante renal, la enfermedad de los legionarios ha sido una causa importante de morbilidad y mortalidad.

Los factores de riesgo o factores predisponentes relacionados con este tipo de infección son: tabaquismo, edad avanzada, las enfermedades pulmonares crónicas (bronquitis crónica y enfisema), tratamiento con esteroides y otros agentes inmunodepresores, quimioterapia del cáncer y diabetes sacarina, pacientes con trasplante. Otro factor predisponente es la exposición a microorganismos virulentos en el medio ambiente. Así se ha producido legionelosis con mayor frecuencia en viajeros a zonas epidémicas como hoteles y hospitales con un problema en curso, áreas altamente endémicas o pacientes que han desarrollado una neumonía estando internados.

Cuando ocurre neumonía en pacientes que tienen estos factores de riesgo, debe investigarse a *Legionella* como causa del problema.

La infección puede dar por resultado una enfermedad febril vaga de duración breve o un padecimiento grave y de progreso rápido. Por lo general, comienza con molestias como la gripe. Se presenta fiebre y aspectos clínicos de una neumonía: tos, falta de aire y dolor torácico. Pueden tener esputo macroscópicamente purulento (espeso y de color amarillo o verde) asociado con las bronconeumonías bacterianas, o haber diarrea hídrica en el 50 % e los casos, náuseas, vómitos y dolor abdominal.

El período de incubación en la enfermedad de los legionarios es de 2 a 10 días, con una frecuencia 5 o 6; la fiebre de Pontiac de 5 a 66 horas, aunque es más común de 24 a 48 horas.

En las radiografías del tórax se observa consolidación multilobar en manchas. Puede haber leucocitosis, hiponatremia, hematuria o función hepática anormal. Durante algunos brotes la mortalidad ha alcanzado niveles del 10 %.

El diagnóstico se basa en el cuadro clínico y en la exclusión de otras causas de neumonía mediante pruebas de laboratorio. La demostración de *Legionella* en las muestras clínicas produce el diagnóstico específico.

Ciertas legionelas también han sido asociadas con una enfermedad denominada fiebre de Pontiac. Esta dolencia fue reconocida por primera vez durante una epidemia en el edificio del Departamento de Salud del Condado en Pontiac, Michigan, en 1968. El 95 % de los empleados de ese departamento presentó la enfermedad, con fiebre, dolores musculares, cefaleas y mareos que remitieron de forma espontánea en 2 a 5 días. Se halló que los pacientes de Pontiac habían tenido un aumento de los anticuerpos específicos contra *Legionella* y el cultivo del tejido pulmonar de los cobayos dio como resultado el crecimiento de *L. pneumophila*.

Como la enfermedad de los legionarios, la fiebre de Pontiac es una enfermedad transmitida por el aire; empero aquí termina la similitud. A diferencia de la enfermedad de los legionarios, la fiebre de Pontiac típicamente afecta a una alta proporción de los individuos expuestos y lo hace en individuos sanos, así como en aquellos con un alto riesgo. No produce una neumonía y nunca es letal. Puede que no se trate de una infección, sino de una manifestación de hipersensibilidad. Aún es un misterio cómo las mismas bacterias pueden producir dos síndromes clínicos tan diferentes.

La susceptibilidad es general, pero rara vez se presenta la enfermedad en menores de 20 años; han ocurrido varios brotes entre pacientes hospitalizados. Hasta cierto punto, la afección más grave guarda relación con la edad más avanzada, en especial en los fumadores y personas cuyo sistema inmunológico se encuentra comprometido. El promedio de edad de los pacientes es entre 50 y 60 años de edad.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO

El diagnóstico de la enfermedad de los legionarios puede ser difícil. No hay gran cantidad de bacterias en el esputo y estos microorganismos se tiñen mal. La tinción de Gram sugiere una neumonía atípica y muestra abundante cantidad de polimorfos nucleares y ausencia de bacterias.

Muestras. En las infecciones humanas se puede recuperar el microorganismo de lavados bronquiales, líquido pleural, biopsias pulmonares o sangre. Es más difícil el aislamiento de *Legionella* a partir del esputo, por el predominio de bacterias de la flora normal en este. Es raro recuperar este microorganismo de otros sitios anatómicos.

Frotis. Las legionelas no pueden demostrarse en los frotis de las muestras clínicas teñidos por el método de Gram. Las pruebas directas de anticuerpos fluorescentes realizadas en las muestras pueden ser diagnósticas, pero la prueba tiene sensibilidad baja en comparación con el cultivo. A veces se utilizan tinciones argénticas para las muestras de tejidos.

Una tinción por impregnación con plata de Dieterle modificada, en la cual los microorganismos se tiñen de color negro a marrón oscuro, es preferida por los patólogos. Además, se recomienda el examen directo con un procedimiento de anticuerpos fluorescentes directos (DFA).

Se describen una serie de inmunoensayos para la detección directa de antígenos de *Legionella* en orina y líquidos corporales; la detección rápida de antígenos de *Legionella* incluye: radioinmunoensayo, ELISA y aglutinación con látex.

Cultivo. Es la forma más específica para diagnosticar la infección. Los cultivos de esputos pueden ser negativos en el 30 al 50 % de los pacientes que tienen una infección por legionelas diagnosticada sobre la base de otros criterios.

Se realiza el aislamiento de especies de *Legionella* de muestras clínicas usando medios no selectivos y selectivos. Las muestras se cultivan en agar BCYEa con antibióticos, que es un medio selectivo. Se emplea base de BCYEa suplementada con cefamandol, polimixina B y anisomicina, la cual se conoce como BMPAa; otro contiene glicina, vancomicina, polimixina B y anisomicina, y se conoce como medio MWY.

Se describe un procedimiento de descontaminación por lavado ácido de esputo y otras muestras contaminadas: el tratamiento de muestras respiratorias contaminadas como: esputo, material de lavado bronquial y material de aspiración traqueal, con una solución ácida antes de la inoculación de placas con agar BCYEa y BMPAa, ayuda a inhibir la flora normal, mejorando las condiciones para el crecimiento de especies de *Legionella*.

Dado que el diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de los legionarios es imperfecto y en ocasiones no se efectúa a tiempo, algunas veces es necesario tratar a los pacientes por la sospecha de esta enfermedad potencialmente letal.

Pruebas específicas. A veces es posible demostrar antígenos de *Legionella* en la orina del paciente por métodos inmunológicos.

Existen técnicas de diagnóstico rápido para el diagnóstico:

1. Examen del esputo por tinción con anticuerpos fluorescentes directos (DFA).
2. Sondas de ADN.
3. Detección del antígeno del serogrupo 1 de *L. pneumophila* en la orina por un inmunoensayo con enzimas.

Pruebas serológicas. Las concentraciones de anticuerpos de las legionelas se incrementan con lentitud durante la enfermedad. Las pruebas serológicas tienen una sensibilidad de 60 a 80 % y una especificidad de 95 a 99 %. Como menos del 10 % de todos los casos de neumonía se debe a *Legionella*, el valor de predicción de una prueba serológica positiva en casos esporádicos es bajo (40 a 70 %). Las pruebas serológicas son más útiles para obtener un diagnóstico retrospectivo en brotes de infecciones por *Legionella*.

INMUNIDAD

La recuperación requiere de una respuesta inmune mediada por células. Los anticuerpos producidos durante la infección pueden unirse a la superficie bacteriana o incrementar la captación de las bacterias por los neutrófilos. En contraste con la respuesta humoral, la respuesta inmune celular limita el crecimiento de *L. pneumophila* en los macrófagos. Se sabe que una linfoquina, el γ -interferón, suprime el crecimiento de las legionelas en los macrófagos porque induce a estas células a limitar la disponibilidad del hierro para las bacterias intracelulares. La limitación de este nutriente esencial y la eliminación del nicho intracelular como un sitio para la multiplicación, pueden constituir la función crítica del sistema inmune en el control de la infección por *L. pneumophila*.

Los pacientes infectados sintetizan anticuerpos contra *Legionella*, pero la respuesta humoral máxima puede retardarse hasta 4 u 8 semanas después de la infección. Las funciones de los anticuerpos y respuestas celulares en la inmunidad protectora en el hombre no se han definido. Ocurren respuestas inmunitarias humorales y mediadas por células. Estas últimas son importantes en la inmunidad protectora debido a la infección y proliferación intracelular de *Legionella*.

TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

El tratamiento antibiótico exitoso requiere fármacos que puedan penetrar en las células infectadas, como la eritromicina y las tetraciclinas.

Las legionelas son sensibles a la eritromicina y a algunos otros fármacos. El tratamiento de elección es eritromicina, que ha sido eficaz, inclusive, en pacientes inmunodeprimidos. Se ha usado rifampicina en dosis de 10 a 20 mg/kg/día en pacientes cuya reacción al tratamiento era retrasada. Quizá se requiera ventilación asistida y son esenciales las medidas terapéuticas para el choque.

La prevención de la enfermedad se practica a nivel institucional. En los hospitales, hoteles y otros grandes edificios donde se han producido casos de enfermedad, los sistemas de agua se controlan regularmente por la posible presencia de legionelas. Los sistemas se enjuagan y se descontaminan por hipercloración, irradiación ultravioleta o el sobrecalentamiento del agua a 60 °C. En un futuro, puede que sea posible la inmunización de los seres humanos, en particular aquellos con una de las condiciones de alto riesgo ya mencionadas.

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL

Las legionelas se encuentran por todas partes en el ambiente y su distribución es mundial. Se localizan a menudo en el suelo, en los lagos y las corrientes de agua dulce, y se han encontrado en grandes números en los sistemas de aire acondicionado y en los medios de aseo, por ejemplo, las duchas. La cloración y el calentamiento del agua, lo mismo que la limpieza, ayudarán a controlar la multiplicación de legionelas en el agua y en los sistemas de aire acondicionado. Estos microorganismos no se transmiten desde un paciente infectado hacia otras personas. Hay indicaciones epidemiológicas de la transmisión por el aire; posiblemente existen otros modos, pero no se dispone de pruebas concluyentes al respecto.

Por lo común, los brotes de legionelosis se presentan con una baja tasa de ataque (0,1 a 5 %) en la población expuesta. La fiebre epidémica de Pontiac ha exhibido una elevada tasa de ataque (alrededor del 95 %) por lo menos en uno de los brotes.

Además de *L. pneumophila*, se ha hallado que algunas otras especies de *Legionella* causan enfermedades humanas. En general, también son infecciones relacionadas con el agua y producen aspectos clínicos comparables a los de la enfermedad de los legionarios. Entre estas especies se destaca *L. micdadei*, que era conocida como el agente de la neumonía de Pittsburgh antes de establecerse su relación con la *L. pneumophila*.

Descripción: enfermedad bacteriana aguda con dos manifestaciones clínicas y epidemiológicas identificadas y diferentes: la enfermedad de los legionarios y la fiebre de Pontiac. En ambas puede aparecer fiebre alta con escalofríos. Son comunes la tos seca, el dolor abdominal y la diarrea. En la enfermedad de los legionarios se puede presentar como complicación, insuficiencia respiratoria. La tasa de letalidad de casos hospitalizados de enfermedad de los legionarios ha llegado hasta un 39 %. La fiebre de Pontiac no ha ocasionado neumonía o muerte.

El diagnóstico depende del aislamiento del microorganismo, en medios especiales, de su demostración por inmunofluorescencia directa en la tinción del tejido afectado o en secreciones de las vías respiratorias, de la detección de antígenos de *L. pneumophila* serogrupo 1 en la orina por radioinmunoanálisis o de un incremento del cuádruple o más en el título de anticuerpos inmunofluorescentes entre el suero de fase aguda y el extraído de 3 a 6 semanas después.

Agente infeccioso: *Legionella*, bacilos gramnegativos con poca capacidad de tinción que necesitan cisteína y otros nutrientes para proliferar *in vitro*. En la actualidad se han identificado 18 serogrupos de *L. pneumophila*. El serogrupo 1 es el que causa la enfermedad con mayor frecuencia.

Distribución: el primer caso comprobado tuvo lugar en 1947 y el primer brote verificado de legionelosis, en 1957, en Estados Unidos. A partir de ese momento, la enfermedad ha sido identificada en toda América del Norte y también en Australia, África, América del Sur y Europa. Los casos se producen con mayor frecuencia en verano y otoño.

Reservorio: se plantea el agua como reservorio predominante; los sistemas de agua caliente (duchas) y las torres de enfriamiento para acondicionamiento de aire; condensadores para evaporación, humidificadores, tanques de remolino, dispositivos de inhaloterapia y fuentes decorativas han sido señalados como el reservorio desde el punto de vista epidemiológico. El microorganismo sobrevive meses en el agua de grifos y en la destilada.

Modo de transmisión: se plantea que sea por el aire. Pudieran existir otras vías aún no demostradas.

Período de incubación: la enfermedad de los legionarios tiene un período de incubación de 2 a 10 días y con mayor frecuencia de 5 a 6 días; la fiebre de Pontiac de 5 a 66 horas, aunque es más común de 24 a 48 horas.

Período de transmisibilidad: no se ha corroborado la transmisión directa de una persona a otra.

Susceptibilidad y resistencia: esta patología es más frecuente en pacientes mayores de 50 años, en fumadores, pacientes diabéticos, enfermedad pulmonar crónica, nefropatías, cáncer o con deficiencias inmunitarias (pacientes tratados con corticosteroides o trasplantados). Es más habitual en el sexo masculino.

Métodos de control

Medidas preventivas. Las torres de enfriamiento deben ser drenadas y limpiadas en forma periódica para eliminar las escamas y el sedimento. Utilizar biocidas para limitar la proliferación de microorganismos que forman limo. En los aparatos de inhaloterapia no debe utilizarse agua corriente del grifo.

Control del paciente, de los contactos y del ambiente inmediato. Hay que tener en cuenta lo siguiente:

1. *Notificación a la autoridad local de salud:* en muchos países no es una enfermedad de notificación obligatoria.
2. *Aislamiento:* ninguno.
3. *Desinfección concurrente:* ninguna.
4. *Cuarentena:* ninguna.
5. *Inmunización de contactos:* ninguna.
6. *Investigación de contactos y de la fuente de infección:* búsqueda de casos adicionales debidos a la infección proveniente de una fuente ambiental común.
7. *Tratamiento específico:* la eritromicina parece ser el medicamento preferido. También pueden ser eficaces los macrólidos nuevos, como la claritromicina y azitromicina. La rifampicina puede ser un complemento útil, pero no debe emplearse sola. No se tiene mucha experiencia en relación con el uso de las fluoroquinolonas. La penicilina, las cefalosporinas y los aminoglucósidos son ineficaces.

Medidas en caso de epidemia. Son eficaces las medidas de descontaminación de las fuentes sospechosas por métodos como la cloración, el sobrecalentamiento de los abastecimientos de agua o ambos.

Repercusiones en caso de desastre. No se conoce ninguna.

Medidas internacionales. Ninguna.

RESUMEN

La legionelosis es una enfermedad bacteriana aguda con dos manifestaciones clínico-epidemiológicas muy bien definidas: la enfermedad de los legionarios y la fiebre de Pontiac.

Las legionelas producen una infección de los pulmones, transmitida por el aire, que da como resultado una neumonía potencialmente letal. La infección depende de la capacidad de las bacterias para crecer dentro de las células fagocíticas del hospedero. El tratamiento y los mecanismos inmunes son beneficiosos en tanto puedan afectar a las bacterias que ocupan este nicho intracelular.

La tasa general de morbilidad y letalidad en los casos hospitalizados de enfermedad de los legionarios han llegado a la alta proporción de 15 %. La fiebre de Pontiac no ha sido asociada a la neumonía ni es mortal.

El diagnóstico depende del aislamiento del microorganismo causal o su demostración por tinción inmunofluorescente directa del tejido afectado o de las secreciones respiratorias.

BIBLIOGRAFÍA

- Benenson AS. Manual para el control de las enfermedades transmisibles. *En*: Informe Oficial de la Asociación Estadounidense de Salud Pública. 16ta ed. Washington D.C.: OPS. Publicaciones Científica 564, 1997:283-5.
- Cianciotto N. Genetics and molecular pathogenesis of *Legionella pneumophila*, an intracellular parasite of macrophages. *Mol Biol Med* 1989;6:409.
- Dowling JN. Virulence factors of the family *Legionellaceae*. *Microbiol Rev* 1992;56:32.
- Edelstein PH. Antimicrobial chemotherapy for legionnaires disease. *A review Clin Infect Dis* 1995;21 Suppl 3: S265.
- File TM. The role of atypical pathogens. *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* and *Legionella pneumophila* in respiratory infection. *Infect Dis Clin North Am* 1998;12(3):569-92.
- Gavilán JC. Legionnaires disease and hepatitis. *Rev Clin Esp* 1998;198(11):781.
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg A. Microbiología Médica. 16ta ed. Traducida de la 21ra. edición en inglés. Ed. El Manual Moderno, Capítulo 23. Legionelas. 1999:335-51.
- Kirby BD. Legionnaire's disease: Report of 65 nosocomially acquired cases and review of the literature. *Medicine*, 1980;50:188.
- Lowry PW, Tompkins LS. Nosocomial legionellosis: A review of pulmonary and extrapulmonary syndromes. *Am J Infect Control* 1993;21:21.
- Thacker WL, Plikaytis BB, Wilkinson HW. Identification of 22 *Legionella* species and 33 serogroups with the slide agglutination test. *J Clin Microbiol* 1995;21:779.

Capítulo

32

Vibrios

Ma. Margarita Valdés-Dapena Vivanco

INTRODUCCIÓN

El género *Vibrio* es uno de los cuatro géneros que conforman la familia *Vibrionaceae*; sus miembros son habitantes naturales de las aguas y el ambiente marino. Hasta 1960, *V. cholerae* era el único reconocido como patógeno humano. Fue primeramente descrito por Pacini en 1854, que lo encontró en el intestino de un paciente fallecido por el cólera, y en ese momento fue designado como *V. cholerae*. En 1906, Gotschlich, en el Tor, Sinaí, aisló unos microorganismos muy semejantes a *V. cholerae*, pero que diferían de este en su actividad hemolítica, a los cuales llamó *V. eltor*; en la actualidad se considera este microorganismo como una variante de *V. cholerae*. Se reconocen más de 30 especies de *Vibrio*, de las cuales 12 se consideran como patógenas humanas, estas son: *V. alginolyticus*, *V. carchariae*, *V. cholerae*, *V. circumtiansis*, *V. damsela*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. hollisae*, *V. metschnikovii* y *V. vulnificus*. Algunas de estas especies se limitan a producir enfermedad intestinal, otras provocan enfermedad extraintestinal, y otras tienen ambas localizaciones.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Los vibrios son bacilos cortos, curvos, que semejan una coma. Su tamaño varía considerablemente; van desde 1 a 5 μm de largo por 0,3 a 0,6 μm de ancho. Las comas pueden aparecer alargadas, delgadas y delicadas, o cortas y gruesas. Se presentan como células simples, en forma de S, en parejas o a veces en cadenas muy cortas. Las formas de esferoplastos se observan frecuentemente. En los medios líquidos se aprecian, a menudo, formas espirilares. En los cultivos viejos, por el contrario, se ven formas muy pequeñas, pareciendo gránulos y que no fijan bien las coloraciones. En los subcultivos, en muchas ocasiones, los vibrios pierden su forma de coma.

Estos microorganismos son activamente móviles por medio de un flagelo que en la microscopía electrónica se observa unido al blefaroplasto. Son gramnegativos, pero se colorean mejor cuando se usa como contraste carbolfucsina por safranina.

REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES Y CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS

Vibrio puede crecer con facilidad en los medios de cultivo sin altos requerimientos nutricionales. Una de sus principales características es su rápido crecimiento en agua peptonada alcalina al 1 % con un 0,5 % de NaCl. El crecimiento ocurre, principalmente, en la superficie después de 6 a 9 horas de incubación, por lo que se observa una película en la misma. Los vibrios son fuertemente aeróbicos, y es necesario una adecuada fuente de oxígeno para su recobrado. Aunque algunas especies crecen muy pobremente o no crecen a 37°C, en aquellas asociadas con enfermedad en el hombre se advierte que su temperatura óptima de crecimiento oscila entre 30 y 40°C. La presencia de sal es esencial en los medios de cultivo para el crecimiento de vibrios; la concentración de sal requerida para cada especie de vibrios es diferente y esta característica es uno de los parámetros utilizados en su identificación.

Las colonias en los cultivos en medios universales pueden presentarse en la forma lisa (S) o mostrar la forma rugosa (R).

Los estudios fisiológicos para la clasificación en especie comienzan con la reacción de la oxidasa, todos las especies capaces de producir enfermedad en los humanos son oxidasa positiva, con excepción de *V. metschnikovii* que es oxidasa negativa. La mayoría de los vibrios no reducen los nitratos a nitritos, no fermentan la lactosa y sí la glucosa, la maltosa, el manitol y la sacarosa sin formación de gas, en dependencia de la especie, pues estos sustratos, conjuntamente con el enfrentamiento a otros como son: la salicina, la arginina, la lisina y la ornitina, así como la producción de indol y la reacción de Voges-Proskauer, son los principales parámetros utilizados para la definición de las especies de *Vibrio*. La sensibilidad al factor vibriostático O/129 diferencia al género de otros microorganismos afines, pero se han reportado excepciones a esta característica. La formación del factor cuerda en desoxicolato de sodio al 10 % es otra de las diferencias con bacterias semejantes a vibrios.

El poder hemolítico de las cepas de *V. cholerae* ha sido uno de los principales elementos en la diferenciación de *V. cholerae* clásico y *V. cholerae*, El Tor; se ha determinado que *V. cholerae* clásico no produce una verdadera hemolisina soluble, mientras que *V. cholerae*, El Tor, sí la produce.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Se han detectado, por lo menos, dos componentes antigénicos en las diferentes especies de vibrios. El antígeno O, que es termestable, y el antígeno H, el cual es termolábil y su aglutinabilidad e inmunogenicidad se inactivan por el calentamiento a 100 °C durante 15 min y 2,5 horas respectivamente.

Una característica de las especies de *Vibrio* es que todas las cepas de una misma especie poseen los mismos antígenos H, aunque están divididas en muchos serogrupos por el antígeno O. Un determinante antigénico común detectado por técnica de inmunodifusión se ha reportado en la flagelina del flagelo polar de las especies: *V. cholerae*, *V. parahemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. campbelli*, *V. fischeri*, *V. harveyi*, *V. metschnikovii*, *V. nereis* y *V. fluvialis*. Algunas especies de *Vibrio* poseen, además, flagelos laterales, cuya antigenicidad difiere de la del flagelo polar.

Las diferentes especies de *Vibrio* se dividen en serogrupos basándose en sus antígenos O. Aunque los serotipos deben darse sobre la base de sus antígenos O y H, los serogrupos (O) son considerados serovariedades porque todas las cepas de una especie dada comparten el mismo antígeno H y su determinación, por lo tanto, es de poco valor para el serotipaje de las especies del género *Vibrio*.

Algunas serovariedades de *V. parahemolyticus* contienen un antígeno K, que impide su aglutinación con el antígeno O.

Se han descrito más de 80 serovariedades en *V. cholerae*.

Vibrio cholerae O1, agente causal del cólera, se divide en formas antigénicas basadas en su antígeno O, denominadas Ogawa, Inaba e Hikojima. A estas formas, en ocasiones, se les llama serotipos o subtipos, pero estas designaciones son incorrectas. La diferencia antigénica en estas tres formas es cuantitativa y no cualitativa. El antígeno O de *V. cholerae* O1 está integrado por tres factores designados A, B y C. El factor A es el antígeno mayor, específico de *V. cholerae*. Las cepas Inaba son formas mutantes que han perdido el factor B, el cual se puede reconocer como específico para la forma Ogawa. Las cepas Ogawa es posible que tengan una pequeña cantidad de antígeno del factor C y puede que no aglutinen con este factor. La variación antigénica de Ogawa a Inaba es probable en pacientes en una epidemia de cólera, en la cual sea la forma Ogawa el agente etiológico, y esta variación es irreversible. La forma Hikojima es una forma intermedia entre la forma Ogawa e Inaba, y usualmente es inestable; por todo lo antes expuesto, la diferenciación de las tres formas sólo tiene un valor epidemiológico limitado.

Los factores antigénicos B y C no los posee únicamente *V. cholerae*, sino también otros vibrios.

PATOGENIA

Vibrio cholerae penetra por vía oral, la dosis infectante es de 10^8 a 10^9 ; los vibrios son muy sensibles al ácido y, por lo tanto, el estómago es una importante barrera para evitar que los vibrios lleguen a colonizar el intestino, lo cual debe ocurrir para lograr la infección y causar enfermedad. La colonización del intestino delgado depende de funciones como son: la motilidad, la quimiotaxis, las enzimas proteolíticas, las hemaglutininas, los factores de colonización (*pili*) y, finalmente, la producción de toxina, cólera toxina (CT). La adherencia a la mucosa del intestino delgado proximal, es un paso previo a la producción de enterotoxinas y la posterior secreción de agua y electrólitos. Este proceso sucede sin la destrucción del borde en cepillo de los enterocitos, sin causar invasión de la mucosa intestinal y sin provocar lesiones histopatológicas reconocibles al microscopio de luz.

La toxina CT es una proteína grande, periplasmática, compuesta por un 98 % de proteínas, un 1 % de lípidos y un 1 % de hidratos de carbono, cuyos genes estructurales (*ctxA* y *ctxB*) codifican cinco subunidades (B) que ligan la molécula de toxina a los receptores de las células intestinales y una subunidad (A), enzimáticamente activa. Las cepas clásicas poseen dos copias de *ctxB* no ligadas, pero las cepas El Tor tienen, a menudo, una copia. El receptor de la subunidad B es el gangliósido GM1.

La porción A1 de la subunidad A es una ADP ribosiltransferasa que activa la subunidad alfa de la proteína G estimuladora para que se una y active a la adenilciclasa, lo cual da lugar a una elevación prolongada de los niveles de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc). La elevación del AMPc causa cambio en la función de los enterocitos, hay un incremento en la secreción por los enterocitos de las criptas intestinales y una disminución de la función de absorción por los enterocitos situados en los ápices de las vellosidades intestinales.

Se ha descrito el papel de una segunda toxina producida por *V. cholerae*, que tiene como función alterar uniones intercelulares, haciendo que la mucosa intestinal se haga más permeable, y por la acción de la presión hidrostática se filtre hacia la luz intestinal agua y electrólitos; debido a esto aparece diarrea, lo cual se ha puesto en evidencia al producirse una delección de la subunidad A de la toxina CT.

Una tercera enterotoxina, denominada enterotoxina accesoria del cólera (*ace*), ha sido descrita; esta también tiene participación en el cuadro clínico del cólera. Se ha señalado en *V. cholerae*, al igual que en otros patógenos entéricos, la presencia de un islote de patogenicidad que contiene toda la información para los factores de virulencia.

Entre los factores de patogenicidad de otros vibrios se plantean las enterotoxinas, la *cholerae*-like toxina, las hemolisinas, los *pili*, las citotoxinas, la hemolisina fosfolipasa D, el polisacárido capsular en *V. vulnificus*, factores que aumentan la invasividad como las proteasas y la resistencia a la actividad bactericida del suero.

CUADRO CLÍNICO

Vibrio cholerae produce diarrea aguda que se caracteriza por ser de comienzo repentino, diarreas acuosas y profusas; no hay dolor; los vómitos pueden estar presentes; hay rápida deshidratación, acidosis y colapso periférico. La infección asintomática es mucho más frecuente que la aparición del cuadro clínico característico, especialmente en las infecciones por el biotipo El Tor, siendo común en los niños la presencia de diarreas leves.

En los casos graves no tratados, la persona puede morir en horas y la tasa de letalidad excede al 50 %.

Otras infecciones clínicas asociadas a los vibrios son las siguientes:

Vibrio cholerae no O1, gastroenteritis y bacteriemia; *V. mimicus*, gastroenteritis; *V. parahaemolyticus*, gastroenteritis e infecciones de heridas; *V. alginolyticus*, infecciones del oído, conjuntivitis, infecciones de heridas y bacteriemia; *V. vulnificus*, septicemia, fascitis, mionecrosis y gastroenteritis; *V. metschnikovii*, bacteriemia, peritonitis y gastroenteritis; *V. fluvialis*, gastroenteritis; *V. furnissii*, gastroenteritis; *V. hollisae*, gastroenteritis; *V. damsela*, infecciones de heridas; *V. cincinnatiensis*, meningitis; *V. carchariae*, infecciones de heridas.

TRATAMIENTO

En el cólera, el principal aspecto a considerar es la reposición de líquidos.

Los antibióticos de elección son la tetraciclina y el trimetoprim-sulfametoxazol en niños pequeños.

En las infecciones extraintestinales se indica el uso de antibióticos.

EPIDEMIOLOGÍA

Distribución: durante las pandemias del siglo *xx*, el cólera se diseminaba del delta del Ganges a casi todo el mundo; pero durante los primeros años del siglo *xx*, la enfermedad se concentraba en Asia, excepto en 1947 cuando en Egipto se presentó una gran epidemia.

A partir de 1961 se diseminó el biotipo El Tor en gran parte de Asia, Europa oriental y África, la península ibérica e Italia. En 1977 y 1978 se presentaron pequeños brotes en Japón y surgió por vez primera en el Pacífico meridional.

Excepto en algunos casos donde se adquirió la enfermedad en los laboratorios, *V. cholerae* no se identificó en el continente americano de 1911 a 1973. En la década de los 80 aparecieron casos esporádicos en los Estados Unidos de Norteamérica, en el golfo de México y en Australia.

En 1991 el cólera azotó a América, tanto América del Norte como del Sur y América Central. La cepa epidémica encontrada fue *V. cholerae* biotipo El Tor serológicamente Inaba.

En 1992 se produjo una epidemia de diarrea coleriforme en Madras, India. Las cepas identificadas producían toxina colérica, pero no aglutinaban con los sueros clasificadores O1, y se detectó que pertenecían a un serogrupo nuevo, O/139. Esta cepa produce un cuadro clínico igual al cólera ocasionado por cepas O1 y tiene el mismo potencial epidémico; no existe inmunidad a esta cepa por previo contacto natural o por vacunación con las cepas O1.

Modo de transmisión: se transmite, principalmente, por el consumo de agua o alimentos contaminados con heces fecales de enfermos o portadores, sobre todo portadores del biotipo El Tor, que es el más frecuente, pues en el cólera clásico sólo es el convaleciente.

La adquisición de otros vibrios es por medio de la ingestión de alimentos o aguas contaminadas, o por el contacto con aguas marinas o estancadas con estos microorganismos presentes.

Período de incubación: abarca de 2 a 3 días, pudiendo oscilar desde horas hasta 5 días.

Reservorio de *V. cholerae*: es el hombre enfermo o el portador, los otros vibrios no O1 pueden encontrarse en el medio ambiente acuático y marino.

Prevención del cólera: se basa en mantener las medidas higiénicas establecidas, el uso de la lactancia materna y la vacunación. Las vacunas pueden ser parenterales, que sólo

protegen entre un 50 a 60 % y tienen una efectividad entre 3 y 6 meses; y las vacunas orales, las cuales pueden prepararse con células muertas o con células muertas más CT, siendo esta última la que más efectividad ha demostrado. En estudios realizados se ha corroborado una protección de un 60 % durante 2 años.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

El diagnóstico del cólera se hace sobre el estudio de tres aspectos: los casos clínicos, los portadores y el medio ambiente. En los casos clínicos, las muestras útiles para el diagnóstico son las heces fecales y los vómitos. En los portadores se estudian las heces fecales después de suministrar purgante salino. El medio ambiente se analiza mediante las muestras obtenidas del alcantarillado por hisopo de Moore, estudio del plancton o la vegetación costera y estudios de moluscos, aguas y alimentos.

Examen directo. Los métodos del examen directo en campo oscuro o contraste de fase se pueden utilizar en las muestras (provenientes de enfermos) de las heces fecales y el vómito, donde se observarán los microorganismos activamente móviles. La fluorescencia con anticuerpos marcados se emplea en los enfermos en la fase aguda de la enfermedad.

Cultivo. El diagnóstico de certeza se basa en la obtención de los microorganismos a partir de los cultivos.

Si se plantea la demora del procesamiento de las muestras, se recomienda el uso de un medio de transporte como el medio de Cary y Blair. La conservación debe hacerse a temperatura ambiente, pues las temperaturas bajas ocasionan la muerte de los vibrios.

Se recomienda el uso de medios de enriquecimiento especialmente para el aislamiento a partir de muestras provenientes de pacientes convalecientes o de personas asintomáticas. El agua peptonada alcalina pH 9,0 con 1 % de NaCl es el medio recomendado, aunque se puede utilizar otro más selectivo, como el medio de Monsur. La incubación del agua peptonada alcalina no debe sobrepasar las 8 horas.

A partir de las muestras a estudiar o de los medios de enriquecimiento se siembran las placas de medios selectivos para vibrios como son el TCBS agar (tiosulfato-citrato-bilis sacarosa) o el medio de *Vibrio* agar o TG agar (gelatina-taurcolato-telurito).

La identificación de *V. cholerae* en muestras de pacientes se efectúa sin dificultad a partir de las placas de agar selectivo, no así cuando la identificación se hace a partir de muestras como el agua o productos marinos que pueden tener como contaminantes otros vibrios.

Las colonias sospechosas de corresponderse con *V. cholerae* se inoculan en el medio de agar Kligler-hierro, y después de incubadas se pasa a la identificación utilizando los esquemas establecidos.

Se recomienda hacer la identificación comenzando por una primera etapa en la cual se realiza la prueba de la oxidasa, la fermentación de la glucosa, la reducción de nitratos a nitritos y el crecimiento en caldos con concentración de NaCl al 1 % y sin este, así como la decarboxilación de la lisina e hidrólisis de la arginina.

En una segunda etapa se deben estudiar la reacción de Voges-Proskauer, la producción de indol y la producción de ácido a partir de: L-arabinosa, lactosa, sacarosa, manitol y salicina (ver Cuadro 32.1).

La complementación de la caracterización de las cepas se hace con la clasificación serológica para determinar los serogrupos, así como con el estudio de la hemólisis para la determinación del biotipo.

Otros métodos utilizados pueden ser: la sonda del ADN para el estudio de genes relacionados con la producción de hemólisis (hyl/A) y el estudio de la cólera toxina por PCR y la clasificación por bacteriófagos, donde se han identificado 25 fagotipos, entre ellos los siguientes: bacteriófagos clásicos I a IV de Mukerjer; bacteriófagos 4 y 5 de Basu y Mukerjer; bacteriófago B de Nicolle; bacteriófagos 4996; 13; 14, 16 y 24 de Bangladeshi; y bacteriófagos 32 y 57 derivados de 3 y 5 de Basu y Mukerjer.

Para la identificación de vibrios a partir de muestras extraintestinales se pueden emplear medios universales con la adición de NaCl al 1 %.

Cuadro 32.1. Características bioquímicas de *Vibrio* spp.

Pruebas/Sustratos	<i>V. cholerae</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. hollise</i>	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. damsela</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. metstratovii</i>	<i>V. carcharias</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. furdessii</i>
Oxidasa	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Indbl	+	+	+	+	+	-	-	V	-	+	-
Voges-Proskauer	V	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-
Lactosa	-	-	-	-	+	-	-	V	-	-	-
Sacarosa	+	-	-	+	-	-	g	+	+	-	+
D-manitol	+	+	-	+	V	-	+	+	V	+	+
Salicina	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
Arginina	-	-	-	-	-	+	+	V	-	-	+
Lisina	+	+	-	+	+	V	-	V	V	+	-
Omitina	+	+	-	V	V	-	-	-	-	+	-
Crecimiento en:											
0 % NaCl	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
1 % NaCl	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
6 % NaCl	V	+	V	+	+	+	+	+	+	V	+
7 % NaCl	-	+	V	+	-	-	+	+	-	+	-
10 % NaCl	-	-	-	+	-	-	V	-	-	-	-

Las reacciones son consideradas hasta 2 días de 35 a 37°C.

+: entre 90 y 100 % de positividad.

-: entre 0 y 10 % de positividad.

V: variable.

g: gas.

Tomado de: Bottone E, Janda JM. Ob. cit., pp. 269-375.

RESUMEN

Vibrio cholerae y otros vibrios que producen enfermedad en el hombre pertenecen a la familia *Vibrionaceae*. *V. cholerae* es el agente causal del cólera y uno de sus principales mecanismos para originar enfermedad es la elaboración de CT; su localización es intestinal y provoca diarreas profusas que pueden ocasionar, en los casos graves, la muerte. Desde el punto de vista serológico *V. cholerae*, que produce esta enfermedad, pertenece al serogrupo O1, y en dependencia de su contenido antigénico puede clasificarse en Inaba, Ogawa e Hikojima. Otro vibrio descrito recientemente, el O/129, se ha encontrado produciendo brotes epidémicos y su mecanismo patogénico es también la elaboración de CT. Otras especies de vibrios pueden hallarse en localizaciones extraintestinales ocasionando patología.

El diagnóstico de vibrios intestinales se hace utilizando medios de enriquecimientos y selectivos específicos para su posterior identificación por estudios serológicos y fisiológicos.

Los vibrios de localización extraintestinal se pueden identificar a partir de medios universales con 1 % de NaCl, y siguiendo, posteriormente, los estudios antes mencionados.

BIBLIOGRAFÍA

- Arita M, Takeda T, Honda T, Miwatni T. Purification and characterization of *Vibrio cholerae* non O1 heat-stable enterotoxin. *Infection and Immunity* 1986:45-9.
- Battacharya SK, Battacharya MK, Ramamurthy T, Pal A et al. Acute Secretory Travellers' Diarrhoea caused by *Vibrio cholerae* non O1 which does not produce cholera-like or heat-stable. *J Diarrhoeal Dis Res* 1992;10(3):161-3.
- Bottone E, Janda JM. *Vibrio*. *In: Howard B, Keiser J, Smith T et al. (eds.). Clinical and Pathogenic Microbiology*. St Louis: Mosby-Year Book, Inc., 1994:269-375.
- Falkow S, Mekalos J. Bacilos entéricos y vibrios. *En: Davis B, Dulbecco R, Eisen H, Ginsberg H (eds.). Tratado de Microbiología*. 4ta ed. Barcelona: Masson SA, 1996:541-66.
- Glass RI. Cholera and Non-cholera vibrios. *In: Farthing MJ, Keusch GT (eds.). Enteric Infections*. New York: Raven Press, 1989:317-25.

-
- Gómez H, Cleary T. Cólera. *En*: Behrman R, Kliegman R, Arvin A (eds.). Nelson. Tratado de Pediatría. La Habana: Ed. de Ciencias Médicas, 1998:1002.
- Jawetz E, Melnik J, Adelberg A (eds.). Manual de Microbiología Médica. 15ta ed. en español. México: Ed. El Manual Moderno SA, 1996:273-6.
- Kelly M, Hickman-Brenner FW, Farmer III JJ. *Vibrio*. *In*: Balows A, Hausler W, Herrman K et al. (eds.). Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. Washington D.C.: American Society for Microbiology, 1991:384-95.
- OMS. Programa para el control de las enfermedades diarreicas. Informes de Grupo Científico de Trabajo, 1980.
- OPS. El control de las enfermedades transmisibles en el hombre. Publ Cient 442, 1997.
- Romero Cabello R. Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. México D.F.: Ed. Médica Panamericana, 1997:273-81.
- Sakazaki R. *En*: Barua D, Greenough W (eds.). Cholera. New York: Plenum Medical Book Company, 1993: 37-55.

Capítulo

33

Aeromonas y *Plesiomonas*

Ma. Margarita Valdés-Dapena Vivanco

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el Manual de Bergey incluye los géneros *Aeromonas* y *Plesiomonas* dentro de la familia *Vibrionaceae* debido a sus características morfológicas, fisiológicas y a su contenido de G + C entre un 51 y un 63 %. Recientemente se ha recomendado la adición de una nueva familia, *Aeromonadaceae*, e incluir a *Plesiomonas* en el género *Proteus*, todo esto basado en el hecho de evidencias moleculares genéticas.

Según se define por los centros de control de enfermedades, los fenotipos y especies genéticas que aparecen produciendo enfermedad en el hombre son los siguientes:

Especie fenotípica	Grupo de hibridación	Especie genética
<i>A. hydrophila</i>	1	<i>A. hydrophila</i>
	2	No nombrada
	3	<i>A. salmonicida</i>
<i>A. caviae</i>	4	<i>A. caviae</i>
<i>A. caviae</i>	5A	<i>A. media</i>
	5B	<i>A. media</i>
<i>A. sobria</i>	8	<i>A. veronii</i>
	9	No nombrada
<i>A. veronii</i>	10	<i>A. veronii</i>
<i>A. veronii</i> -like	11	No nombrada
<i>A. schubertii</i>	12	<i>A. schubertii</i>

AEROMONAS

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Los miembros de este género miden de 1,1 a 4,4 μ m de largo por 0,4 a 1,0 μ m de ancho. La mayoría de las cepas son móviles por medio de flagelos monótricos, algunas poseen flagelos

lofótricos y otras presentan pequeños flagelos laterales. *A. salmonicida* y *A. media* son excepciones de cepas inmóviles.

Desde el punto de vista fisiológico la oxidasa es positiva, así como la catalasa, y producen la fermentación de la glucosa y otros carbohidratos, dando lugar a la acidificación de los medios diferenciales y a la producción de gas.

Su diferenciación de *Vibrio* se hace basada en su resistencia al agente vibriostático O/129 (2,4-diamino-6,7-disopropilpteridina), así como su incapacidad para crecer en caldo con cloruro de sodio al 6,5 %. Otras pruebas utilizadas para su caracterización son: la hidrólisis de la esculina, la acidificación de la arabinosa y la sacarosa. La producción de gas a partir de la glucosa, la reacción de Voges-Proskauer y la elaboración de indol, se emplean para diferenciar los fenotipos que ocasionan afecciones clínicas en el hombre. *Aeromonas* se caracteriza por producir otras exoenzimas como son: amilasa, Dnasa, esterasas, peptidasas, arilamidasa y otras enzimas hidrolíticas.

Su temperatura de crecimiento varía, por lo cual puede ocurrir de 0 a 45 °C; las cepas humanas mesofílicas crecen de 10 a 40 °C y *A. salmonicida* crece por debajo de 37 °C.

Para realizar los cultivos, a pesar de no haber un medio que sea aceptado por todos los investigadores, el más utilizado en la actualidad es el agar-sangre con ampicilina a 10 mg/L o el agar selectivo cefsulodina-irgasan-novobiocina (CIN), incubados ambos de 25 a 30 °C. Como medios de enriquecimientos, previo a la siembra en los medios selectivos, se han recomendado el agua alcalina peptonada, el medio GN o la solución salina fosfato-bufferada, esta última incubada a 4 °C por 14 días. Las colonias observadas se semejan a las colonias de *Enterobacteriaceae*.

La fermentación de la lactosa en los medios diferenciales no siempre es vista y el crecimiento de *Aeromonas* en el medio de CIN es indistinguible del de *Yersinia*. En agar-sangre la hemólisis no se observa en *A. caviae*, la mayoría del resto de las especies son hemolíticas, por tanto se advierte un gran halo de β -hemólisis.

PATOGENIA

Se ha comprobado en *Aeromonas* la producción de varias enzimas extracelulares y toxinas, incluyendo enterotoxinas y citotoxinas. Diversos mecanismos de invasividad y propiedades de hemaglutinación se han descrito. La mayoría de estos factores se han señalado en *A. caviae*, *A. sobria* y *A. hydrophila*, pero aún muchos de sus mecanismos quedan por definirse.

El papel de *Aeromonas* como causa de enfermedad entérica no está bien definido, pues en individuos sanos es posible hallar un alto porcentaje de portadores, así como cepas virulentas inoculadas pueden fallar para producir el cuadro clínico o no haber relación con la presencia de los factores de virulencia de las cepas identificadas y el establecimiento de enfermedad (ver Cuadro 33.1).

CUADRO CLÍNICO

Aeromonas es causa de enfermedad intestinal, extraintestinal e infecciones nosocomiales. Las infecciones se adquieren, principalmente, a partir de aguas o comidas contaminadas, así como de la propia flora entérica.

La infección más frecuente es la entérica, la diarrea puede ser acuosa y profusa, acompañada de fiebre y vómitos; aparentar una forma disenteriforme con dolores abdominales y cólicos o presentarse como una diarrea moderada y crónica que puede evolucionar de más de 10 días hasta meses. Los síntomas presentados a veces se confunden con los de cualquier otro patógeno entérico.

Las formas extraintestinales que más se han descrito son las infecciones en heridas ocurridas por traumas o aquellas que hayan estado en contacto con el agua. La septicemia está frecuentemente asociada con pacientes inmunocomprometidos, siendo el intestino el punto de partida de la infección. Otras infecciones extraintestinales, por lo general de origen acuático o de la propia flora intestinal del paciente, son: la otitis, conjuntivitis, peritonitis, colecistitis, endocarditis, meningitis y osteomielitis.

Cuadro 33.1. Características de *P. shigelloides* y *Aeromonas* spp. identificados en muestras clínicas

Características ^b	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. caviae</i>	<i>A. sobria</i>	<i>A. veronii</i>	<i>A. schubertii</i>	<i>P. shigelloides</i>
Oxidasa	+	+	+	+	+	+
Catalasa	+	+	+	+	+	+
Motilidad	+	+	+	+	+	+
Dnasa	+	+	+	+	+	-
Indol	+	+	+	+	-	+
H ₂ S en TSIA	-	-	-	-	-	-
Voges-Proskauer	+	-	+	+	v ^c	-
Urea	-	-	-	-	-	-
Lisina	+	-	+	+	+	+
Ornitina	-	-	-	+	-	+
Arginina	+	+	+	-	+	+
Crecimiento en KCN	+	+	v	v	-	-
Esculina	+	+	-	+	-	-
β-hemólisis en agar-sangre de carnero	+	-	+	+	v	-
Sensibilidad a O/129	-	-	-	-	-	+
Hidrólisis de gelatina a 22 °C	+	+	+	+ ^d	+ ^d	+ ^d
Gas de la glucosa	+	-	+	+	-	-
Ácido de:						
Glucosa	+	+	+	+	+	+
Arbutina	+	+	-	?	?	?
Lactosa	v	v	-	-	-	v
Celobiosa	v	+	v	v	-	-
Sacarosa	+	+	+	+	-	-
L-arabinosa	+	+	v	-	-	-
Myo-inositol	-	-	-	-	-	+
D-sorbitol	v	-	-	-	-	-
Salicina	v	+	-	+	-	v
Manitol	+	+	+	+	-	-

^b Incubación a 29 o 37 °C por 2 días; +, ≥ 80 % positivo; -, ≤ 20 % positivo; v, 20 a 80 % positivo; ?, dato no disponible; ^c dependiendo del método usado; ^d después de 7 días a 22 °C.

Tomado de: Graevenitz A, Altwegg M. Ob. cit., pp. 396-401.

TRATAMIENTO

En las formas de diarreas no complicadas el tratamiento recomendado es el sintomático; en las formas complicadas se emplea el trimetoprim-sulfametoxazol. En las formas generalizadas de la infección se recomienda el uso por vía parenteral de un aminoglucósido o una cefalosporina de tercera generación.

EPIDEMIOLOGÍA

La infección natural por *Aeromonas* se observa en los reptiles, anfibios y peces; el hombre puede ser portador del microorganismo sin padecer la enfermedad.

La infección en los humanos por lo general ocurre en el verano; las cepas infectantes probablemente proceden del agua, la tierra, los alimentos o del tracto gastrointestinal del hombre.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Las muestras a estudiar dependen de la localización de la infección. El transporte de las mismas puede realizarse utilizando los medios y métodos establecidos para *Enterobacteriaceae*, por lo tanto, sobreviven en medios de transporte de glicerol bufferado, Stuart o Cary y Blair, hasta 5 días después de su inoculación.

Las muestras de heces fecales se pueden inocular en los medios diferenciales, para enterobacterias, así como en agar-sangre con ampicilina o agar-sangre con CIN. Los medios de enriquecimientos a emplear pueden ser el caldo GN o la solución salina bufferada, utilizados como se explicó con anterioridad.

La selección de las colonias debe hacerse a partir de las cepas, que pueden ser, en las bases de agar-sangre, hemolíticas o no, y en los medios diferenciales presentarse como fermentadoras tardías de la lactosa o no fermentando este carbohidrato y posteriormente inocularse en el medio de Kligler-hierro agar.

La reacción de la oxidasa es el primer paso para descartar la presencia de estos microorganismos, y diferenciarla de otros patógenos como *Shigella* o *Salmonella* no productoras de H₂S; debe ser positiva, y se recomienda el uso del método en papel de filtro, pues algunas especies pueden arrojar falsos resultados cuando se hace directamente.

La diferenciación con la familia *Vibrionaceae* se efectúa por el factor vibriostático. La distinción entre las especies se realiza utilizando las tablas convencionales establecidas para este propósito o por los métodos de codificaciones numéricas que se pueden adquirir comercialmente. Otras identificaciones como son: el serotipaje, el fagotipaje, determinación de plásmidos y estudios del ADN, es posible llevarlas a cabo para el estudio y clasificación de *Aeromonas*, pero están limitadas a laboratorios de referencia.

Las muestras extraintestinales que no tengan contaminación pueden inocularse en placas de agar-sangre y seguir el diagnóstico al igual que se describió en los párrafos anteriores.

Los métodos para la determinación de anticuerpos son poco utilizados.

PLESIOMONAS

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Plesiomonas shigelloides es la única especie del género, mide de 2 a 3 μ m de largo por 0,1 a 1 μ m de ancho y casi siempre presenta de dos a cinco flagelos polares lofótricos. En cultivos jóvenes se pueden observar flagelos laterales más cortos. Puede haber cepas inmóviles o con flagelos monótricos. El contenido de G + C es de 51 mol % y su contenido en ácidos grasos es similar a *Aeromonas*.

Desde el punto de vista antigénico presenta reacciones cruzadas con *Shigella sonnei* fase 1, así como con *Shigella A* y *Shigella C*.

Plesiomonas shigelloides es heterotrófica, produce oxidasa y catalasa, reduce los nitritos a nitritos, fermenta la glucosa y otros carbohidratos produciendo ácido, pero no gas. Las cepas crecen entre 8 y 45°C a pH entre 4,0 y 9,0, y en un máximo de concentración de NaCl de un 5 %.

PATOGENIA

Poco se conoce de los mecanismos con que cuenta *P. shigelloides* para producir enfermedad. En algunas cepas se ha demostrado la invasividad, pero la presencia de toxinas no está bien esclarecida en estas cepas.

CUADRO CLÍNICO

La infección por esta bacteria ha sido relacionada tanto con las formas intestinales produciendo diarreas como con las formas extraintestinales como son: meningitis, artritis, celulitis o conjuntivitis.

TRATAMIENTO

En las infecciones entéricas autolimitadas no se recomienda el uso de antibióticos, estos se limitan a los casos complicados, y en las infecciones intestinales se usa el trimetoprim-sulfametoxazol. En las infecciones extraintestinales se aplican los tratamientos con un

aminoglucósido, con cefalosporinas de segunda o tercera generación, cloranfenicol o cefalotina.

EPIDEMIOLOGÍA

La distribución acuática de *P. shigelloides* es limitada por su falta de halofilismo. Se puede encontrar en el agua fresca o en aguas estancadas, principalmente en climas tropicales. Puede hallarse como reservorio en peces, ostras, serpientes, monos, perros, gatos, chivos, puercos, pollos y ganado vacuno. La cifra de portadores humanos es muy baja y las infecciones se presentan con más frecuencia en países tropicales y subtropicales; Cuba se encuentra entre estos. La fuente de infección es la ingestión de aguas o alimentos contaminados.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Las muestras para estudiar dependen de la localización de la infección, pudiendo ser estas heces fécales o muestras de otras localizaciones. Las muestras de heces fécales se procesan igual que para *Aeromonas*, con la excepción de que el medio con ampicilina no es recomendado por ser algunas cepas de *P. shigelloides* sensibles a este antibiótico. El uso de agua peptonada alcalina para enriquecimiento tampoco se recomienda. La presencia de hemólisis en agar-sangre es nula; la fermentación de la lactosa es variable, y cuando aparece es tardía. En muestras de otras procedencias, que no sea la entérica, se recomienda el uso de placas de agar-sangre.

Los métodos de diferenciación se hacen basándose en su actividad frente a los distintos sustratos, y se utilizan las tablas convencionales o los métodos de codificaciones numéricas.

Los únicos métodos de tipaje utilizados se basan en sus antígenos O y H, habiéndose descrito dos esquemas de clasificación para esta especie. Los métodos para la determinación de anticuerpos son poco utilizados.

RESUMEN

Aeromonas y *Plesiomonas* hasta hace poco estaban consideradas dentro de la familia *Vibrionaceae*, pero recientemente se ha recomendado incluir a *Aeromonas* en una nueva familia: *Aeromonadaceae*, y *Plesiomonas* pasarla al género *Proteus*. Ambas bacterias son bacilos cortos gramnegativos, activamente móviles y oxidasa positiva.

La producción de enfermedad en *Aeromonas* está bien definida por la acción de enterotoxinas, citotoxinas, enzimas extracelulares, así como por mecanismos de invasividad. En *Plesiomonas* los mecanismos son menos conocidos, aunque en algunas cepas se ha demostrado la capacidad invasiva.

Ambas bacterias se han relacionado con la producción de diarrea y con la localización extraintestinal.

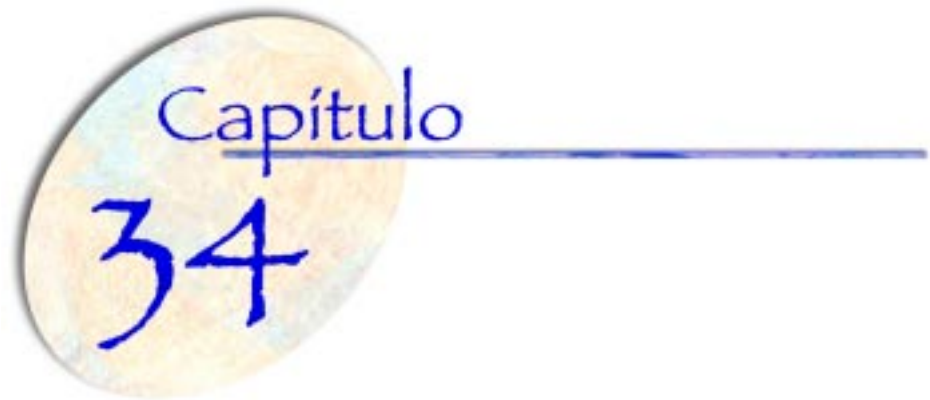
Su identificación se hace a partir de la siembra de los productos patológicos en los medios selectivos y diferenciales, y en *Aeromonas* se recomienda el uso de agar-sangre ampicilina. El estudio fisiológico de las cepas hace su diferenciación entre ellas mismas y entre *Vibrio* spp.

Los reservorios naturales de ambas bacterias pueden ser los animales, aunque también es posible hallar en el agua y los alimentos la fuente de infección.

BIBLIOGRAFÍA

- Altwegg M. *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In: Howard B, Keiser J, Weissfeld A, Tilton R (eds.). *Clinical and Pathogenic Microbiology*. St Louis: Mosby-Year Book, Inc., 1994:377-81.
- Bracho A. *Aeromonas*. Identificación de especies y correlación de marcadores bioquímicos y pruebas de enteropatogenicidad. Universidad de Zulia, Venezuela, 1989, vol. 17(1-4).
- Falkow S, Mekalanos J. Bacilos entéricos y vibrios. En: Davis B, Dulbecco R, Eisen H, Ginsberg H (eds.). *Tratado de Microbiología*. 4ta ed. Barcelona: Masson SA, 1996:541-66.

- Graevenitz A, Altwegg M. *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In: Balows A, Hausler W, Herrman K et al. (eds). Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. Washington D.C., 1991:396-401.
- Janda JM. Recent advances in the study of the taxonomy, pathogenicity, and infectious syndromes associated with the genus *Aeromonas*. Clin Microbiol Rev 1991;4:397-410.
- Ljungh A, Wadstrom T. *Aeromonas* y *Plesiomonas*. In: Farthing MJ, Keuch GT (eds.). Enteric Infection. New York: Raven Press, 1989:169-81.
- Martinetti L, Altwegg M. Ribosomal RNA gen restriction patterns as taxonomic tools in genus *Aeromonas*. Inst J Syst Bacteriol 1992;42:389-92.
- OMS. Programa para el control de las enfermedades diarreicas. Informes de Grupo Científico de Trabajo, 1980.
- Singh DV, Sanyal SC. Biochemical characteristics and enterotoxicity of *Aeromonas* species isolated from man and environment. J Diarrhoeal Dis Res 1992;10(4):231-4.
- _____. Haemolysin and enterotoxin production by *Aeromonas caviae* isolated from diarrhoeal patients, fish and environment. J Diarrhoeal Dis Res 1992;10:16-20.
- Winsor D, Cleary T. *Escherichia coli*, *Aeromonas* y *Plesiomonas*. En: Behrman R, Kliegman R, Arvin A (eds.). Nelson. Tratado de Pediatría. La Habana: Ed. de Ciencias Médicas, 1998:995-9.



Campylobacter, Helicobacter y microorganismos afines

Ma. Margarita Valdés-Dapena Vivanco

CAMPYLOBACTER

Campylobacter jejuni ha emergido durante las últimas décadas como una importante causa de enteritis y enfermedad diarreica. Sólo dos décadas atrás se ignoraba este microorganismo como patógeno humano y nada más era tenido en cuenta en la patología animal.

Las especies de *Campylobacter* han sido estudiadas desde 1913 como causa de aborto en el ganado, siendo considerado en ese entonces dentro del género *Vibrio* debido a sus características morfológicas, por lo que fue llamado en 1919 por Smith y Taylor, *Vibrio fetus*.

Posteriormente en 1931, Jones lo llamó *Vibrio jejuni*, identificándolo como causa de diarreas en animales; Doyle lo nombró en 1944 *Vibrio coli*.

En 1946, en Illinois, Levy describió por vez primera un brote de gastroenteritis producido por un microorganismo “semejante a un vibrio”, pero no fue aislado de las heces, aunque sí del torrente circulatorio.

Vinzent lo aisló por vez primera en un caso séptico en humanos en 1947.

En 1957, los vibrios microaerofílicos fueron divididos en dos grupos por King, uno de ellos asociado con el hasta ese momento descrito como *V. fetus*, y el otro grupo difería de este en su temperatura óptima de crecimiento, la cual era más elevada que la de los anteriores; los llamó “vibrios relacionados” y los asoció con la etiología de cuadros gastroentéricos. Esta nomenclatura se mantuvo hasta 1963.

En 1963, Sebald y Verón demostraron las diferencias que había entre los vibrios microaerofílicos y los verdaderos vibrios, las cuales estaban especialmente relacionadas con el contenido de G + C del ADN, el cual en estos microorganismos es más bajo que en los vibrios, siendo de 30 a 40 mol % para *Campylobacter*; también difieren de los vibrios en su metabolismo microaerofílico y la no producción de ácidos en medios con carbohidratos.

TAXONOMÍA

En la actualidad se reconocen 15 especies de *Campylobacter* y seis subespecies; la mayoría de las campilobacterias y los organismos semejantes a *Campylobacter* han sido

asignados a la superfamilia VI rARN, la cual comprende el género *Helicobacter*, la familia *Campylobacteriaceae* y microorganismos de otros taxa. Esta superfamilia se divide en tres grupos:

- I. Verdaderas campilobacterias
 - IA. Patógenos entéricos y termofílicos
 - C. jejuni* ssp. *jejuni*
ssp. *doylei*
 - C. coli*
 - C. lari* variantes ureasa negativa
variantes ureasa positiva
 - C. upsaliensis*
 - IB. Otras verdaderas campilobacterias
 - C. fetus* ssp. *fetus*
ssp. *veneralis*
 - C. hyointestinalis*
 - C. sputorum* biovar. *sputorum*
biovar. *bubulus*
biovar. *fecalis*
 - C. mucosalis*
 - C. consisus*
- II. Especies psicrófilicas
 - C. nitrofragilis* y *C. cryaerophila*

Todas estas especies, con excepción de *C. hyointestinalis* ssp. *lawsonii*, *C. sputorum* bv. *fecalis* y *C. nitrofragilis*, se han asociado con enfermedades en el hombre.

MORFOLOGÍA

Campylobacter es un bacilo gramnegativo curvo, pequeño, que en los cultivos jóvenes se observan formas en S, alas de gaviotas o espirales. Cuando se miran en un microscopio en campo oscuro o contraste de fase se ve su gran movilidad, rotando sobre su propio eje o atravesando el campo velozmente, semejando un dardo. Este movimiento es debido a la presencia de uno o dos flagelos, uno en cada extremo.

En los cultivos viejos se observan formas cocoides que pierden la motilidad.

En las tinciones de Gram se aprecian las formas espirales, pero esta coloración debe realizarse modificando su contraste, sustituyendo la safranina por carbofucsina al 0,6 %.

CULTIVOS

Para la obtención del crecimiento de las cepas de *Campylobacter* termofílicos se necesita la incubación de los cultivos en bajas tensiones de O₂ entre un 4 a 6 %. Estas condiciones se pueden obtener por medios físicos o con medios de cultivo con Fe₂SO₄, metabisulfito de sodio o piruvato de sodio, los cuales aumentan su tolerancia al O₂. Las cepas de las especies termofílicas deben ser incubadas a 42 °C, lo cual permite diferenciarlas del resto de *Campylobacter*. Para el aislamiento de estas cepas a partir de muestras altamente contaminadas, como son las heces fecales, se requiere el uso de inhibidores producidos por la mezcla de varios antibióticos que actúan sobre la flora entérica normal sin afectar a *Campylobacter*. Entre estos inhibidores, los más usados son: el inhibidor de Skirrow (vancomicina-polimixina B-lactato de trimetoprim) o el de Butzler (bacitracina-novobiocina-ciclohexamida-colistina-cefazolina).

Otros métodos para el aislamiento de *Campylobacter* han sido descritos, como es el empleo de membranas filtrantes de 0,65 µm .

En los medios sólidos se observan dos tipos de colonias: unas redondas, convexas, lisas, de bordes enteros; y otras planas, grisáceas, acuosas que siguen la dirección del asa de siembra. La presencia de humedad en los medios de cultivo es imprescindible para el recobrado del microorganismo.

Identificación de los cultivos

La identificación presuntiva de las cepas recobradas de muestras clínicas, de alimentos, agua u otras fuentes, se hace sobre la base de la reacción positiva de la prueba de la oxidasa. El uso de pruebas complementarias es necesario para la determinación de especies y biotipos. La hidrólisis del hipurato de sodio diferencia a *C. jejuni* de *C. coli* hidrolizando *C. jejuni* el hipurato y siendo la reacción negativa en *C. coli*. La diferenciación de los dos biotipos de *C. jejuni* se hace en dependencia de la producción de H₂S. En el biotipo 1 no se detecta la producción de H₂S en medios que contienen hierro, mientras que la presencia de este elemento es detectada en el biotipo 2. Otras características fisiológicas que presenta *C. jejuni*, el cual es el más frecuentemente diagnosticado, son las siguientes: la catalasa es positiva; el crecimiento en glicina al 1 % es positivo, así como el crecimiento en bilis de buey al 1 %, y la reducción de nitratos a nitritos es también positiva. Algunas cepas de *C. jejuni* pueden reducir las sales de trifeniltetrazolium, tornando rojo los cultivos. La sensibilidad al disco de ácido nalidíxico de 30 mg es positiva en las cepas de *C. jejuni* y negativa en *C. lari*.

La diferenciación por cromatografía en gas líquido ha sido utilizada por Blaser para estudiar los ácidos grasos celulares, comprobándose que *C. jejuni* contiene en el carbón 19, un ácido ciclopropánico. La diferenciación por la hidrólisis del ADN también ha sido aplicada para la distinción de especies (ver Cuadro 36.1).

Cuadro 36.1 Características fisiológicas de *Campylobacter*

	Aerobiosis*	Anaerobiosis	O ₂ 3-5 % + CO ₂ *	Oxidasa*	Catalasa	Sim V.T.S.I.*	Pb-acetato *	Hipurato 1 %*	Ác. nalidíxico*	42 °C*	25 °C*	Glicina 1 %*	NaCl 3,5 %*	Bilis 1 %	Reducción de los nitratos	TTC 400 µg/mL*
<i>C. jejuni</i>	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+
<i>C. coli</i>	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+
<i>C. fetus</i>	-	v	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
<i>C. intestinalis</i>	-	v	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-
<i>C. fecalis</i>	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	v	v	+	+
<i>C. sputorum</i>	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-
<i>C. bubulus</i>	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	v	+	+	v	+	-

* Son las que usualmente se hacen; v: variable.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

La presencia de antígenos O, H y K ha sido establecida por distintos investigadores en *Campylobacter*; este último está irregularmente presente en el microorganismo. Se ha extraído un lipopolisacárido tóxico de *Campylobacter*, el cual absorbido a eritrocitos humanos grupo O ha permitido realizar la reacción de hemaglutinación contra la cepa homóloga. Se han detectado antígenos termoestables mayores, así como antígenos termolábiles. Lauwers ha diferenciado 50 serotipos de *Campylobacter jejuni*, coincidiendo los serotipos tanto en animales como en humanos. Lior ha determinado la presencia de 53 serotipos en esta especie. La serotipificación de cepas no es trabajo de rutina en los laboratorios de diagnósticos clínicos, pues no se cuenta con sueros clasificadores comerciales ni esquemas internacionalmente establecidos; cada centro de investigación tiene su propio esquema clasificador.

Las infecciones por *Campylobacter* son capaces de aumentar el título de anticuerpos, los métodos que con más frecuencia se utilizan para este diagnóstico son: la hemaglutinación pasiva, la fijación de complemento, la aglutinación en tubo, el inmunoensayo enzimático (ELISA), el test bactericida del suero y la inmunofluorescencia. Aunque estos métodos no se emplean a menudo en la determinación del síndrome de Guillain-Barré, que puede observarse

después de infecciones por este microorganismo, el único método de determinar su etiología es por la búsqueda de anticuerpos en la sangre del paciente.

PATOGENIA

El factor de virulencia más estudiado en *Campylobacter jejuni* y *C. coli* es el flagelo, el cual está compuesto de dos proteínas íntimamente relacionadas, la FlaA y la FlaB. Esta estructura flagelar, conjuntamente con la forma espirilar que presenta el microorganismo, le confiere a la bacteria una motilidad característica que es muy efectiva para permitir la colonización de la mucosa del intestino delgado y del grueso. Recién se ha comprobado que la presencia de fimbrias en las cepas aumenta su virulencia, ya que favorecen la adhesión. Estudios realizados *in vitro*, así como la presencia de *Campylobacter* en sangre de pacientes infectados, han demostrado la capacidad invasiva de este microorganismo. La invasión se acompaña de un efecto citopático marcado y se plantea que es el principal mecanismo del daño de la mucosa, llevando esto a la inflamación y la diarrea. A diferencia de otros patógenos entéricos invasivos, no todas las cepas de *Campylobacter* presentan esta característica.

Varias proteínas bacterianas nuevas se ha demostrado que son sintetizadas durante la interacción de la bacteria con el epitelio intestinal. Una o más de estas proteínas se plantea que son necesarias para llevar a cabo la invasión, así como la inhibición de la síntesis de proteínas de la célula procariótica también previene el proceso invasivo. La identidad de estas proteínas aún no ha sido determinada. La motilidad mediada por el flagelo es necesaria para la invasión, pues se ha comprobado que las cepas mutantes inmóviles no invaden. Al igual que en otras bacterias invasivas, la polimerización de la actina se requiere en el proceso de la infección. Se han observado acúmulos de actina en los lugares de adhesión de esta bacteria, presentándose una invaginación de la célula atacada con la formación de pseudópodos. La inhibición de factores de la célula del hospedero como son: la tirosina-kinasa, proteínas-G heterotriméticas y la fosfatidilinositol 3-kinasa, también impiden la invasión de *Campylobacter*. Estos son los principales elementos que participan en el sistema de señalización para que ocurran la reestructuración de la actina y los cambios en la mucosa.

La translocación de *Campylobacter* a través de la lámina propia se considera que es un aspecto principal en su habilidad para causar inflamación. Se plantea que, como en otros patógenos entéricos, *Campylobacter* penetra en las células M de forma tal de llegar a los tejidos subyacentes; como una forma alternativa de atravesar la mucosa intestinal, se señala que la bacteria atraviesa directamente al enterocito.

Después de la invasión se plantea que *Campylobacter* permanece en las vacuolas de las células afectadas, aunque en algunos momentos se han observado las bacterias libres en el citoplasma de las células. Hasta este momento la bacteria mantiene su forma espiral, pero cuando ocurre la fusión endosoma-lisosoma, su forma cambia a cocoide. Cuando tiene lugar la infección por *Campylobacter*, existe una intensa respuesta inflamatoria donde hay gran participación de los leucocitos polimorfonucleares, y se observa la infiltración del epitelio intestinal por estas células; la presencia de infiltrado por células mononucleares se ha observado en la lámina propia del íleon y el colon. En ausencia de anticuerpos específicos para *Campylobacter* o complemento, la fagocitosis por los polimorfonucleares es mucho menos eficiente y, por lo tanto, la muerte de la bacteria se ve afectada; sin embargo, la eficaz fagocitosis por macrófagos no requiere de estos elementos, y puede ser efectiva en ausencia de estos.

Además de los factores anteriormente señalados, se plantea que otros elementos que pueden participar en la virulencia de las cepas son la producción de enterotoxinas y citotoxinas.

Los principales sitios donde se observa el proceso infeccioso son el yeyuno y el íleon, detectándose la presencia de lesiones congestivas y hemorrágicas. Estas lesiones también se han observado en el colon.

En las biopsias rectales se aprecia proctocolitis con infiltrado focal de la mucosa, presencia de neutrófilos, eosinófilos y células mononucleares en la lámina propia. Puede presentarse degeneración, atrofia, pérdida del moco, abscesos crípticos y de las glándulas epiteliales, así como ulceraciones de la mucosa epitelial.

CUADRO CLÍNICO

En la actualidad se considera a *C. jejuni* como una de las principales causas de diarreas tanto en países desarrollados como en los que se encuentran en vías de desarrollo. El mismo cuadro clínico producido por *C. jejuni* es el encontrado en pacientes infectados por *C. coli* y *C. laridis*, aunque estas especies son mucho menos frecuentes como causa de enfermedad que *C. jejuni*.

El período de incubación de estos agentes puede ser de 2 a 5 días, y, en ocasiones, hasta 10 días.

Los síntomas suelen aparecer desde formas muy benignas hasta formas severas con graves complicaciones. La fiebre casi siempre está presente en las primeras 24 horas y la diarrea en el 25 % de los casos se acompaña de dolor de cabeza, mialgias y vómitos. En los primeros estadios de la enfermedad se puede presentar dolor periumbilical, seguido de heces líquidas, que después de 1 o 2 días de estar establecido el cuadro clínico, pueden ser mucosas con presencia de sangre.

En los casos severos, la diarrea puede llegar a la deshidratación.

Las complicaciones a veces se presentan, hallándose entre estas: la septicemia, endocarditis, meningitis, artritis séptica, tromboflebitis, absceso local, convulsiones, colecistitis, síndrome de Reiter, infecciones urinarias y abortos. La importancia de la asociación de la infección por *Campylobacter* con el síndrome de Guillain-Barré, ha tomado gran auge en los 2 últimos años, debido a las fuertes evidencias que relacionan la infección previa por este microorganismo y el desarrollo de la reacción inmunológica. El mecanismo para que se produzca esta enfermedad es por el entrecruzamiento antigénico presente entre algunos antígenos de *Campylobacter jejuni*, principalmente el serotipo O 19 y el gangliósido GM1 de las vainas de mielina de los nervios periféricos; los anticuerpos que se forman contra el antígeno O 19 responden al antígeno de las vainas neurales, dando lugar al cuadro clínico. En nuestra experiencia hemos observado un caso donde previo a una infección por *Campylobacter jejuni* desarrolló el síndrome de Guillain-Barré.

Otros cuadros clínicos que se describen en el hombre por la infección debida a otras especies de *Campylobacter* son los siguientes: *C. fetus* ssp. *fetus*, septicemia, gastroenteritis, abortos y meningitis; *Campylobacter consisus*, enfermedades periodontales y gastroenteritis; *C. sputorum*, abscesos y gastroenteritis; *C. curvus*, enfermedad periodontal y gastroenteritis; *C. rectus*, enfermedad periodontal; *C. showae*, enfermedad periodontal; *C. gracilis*, enfermedad periodontal, empiema y abscesos; *C. jejuni* ssp. *doylei*, gastroenteritis; *Bacteroides ureolyticus*, uretritis, lesiones necróticas de los tejidos e infección del líquido amniótico.

EPIDEMIOLOGÍA

Su distribución es mundial, produciendo enfermedad en todas las edades, aunque los niños menores de 5 años es la población más afectada. La especie más frecuentemente identificada en todos los países es *C. jejuni*, según Valdés-Dapena en estudios realizados en nuestro medio, coincide este dato con sus aislamientos. La época del año donde a menudo se reporta este microorganismo como causa de diarreas es en los países subtropicales en la época del verano. En estudios realizados por Valdés-Dapena, reporta el mayor número de aislamientos en nuestro medio en los meses de octubre hasta marzo.

La vía de infección es la oral, por consumo de alimentos y aguas contaminadas, aunque la vía directa de persona a persona, o de animal a persona, ha sido descrita.

El principal reservorio son los animales, variando estos según la especie; como reservorio de *C. jejuni* tenemos: el perro, los gatos, las aves y el ganado bovino; mientras que para *C. coli* el reservorio es el puerco, y para el *C. laridis*, las aves. El hombre como portador es poco frecuente.

La transmisibilidad de la enfermedad se plantea que ocurre mientras existe el curso de la infección, pudiendo llegar hasta varias semanas.

El control de la enfermedad se hace, principalmente, con el cumplimiento de las medidas higiénicas establecidas para el control de las diarreas, así como sobre el control del consumo de agua y alimentos que son las principales vías de adquirir la enfermedad.

TRATAMIENTO

En las enteritis no complicadas no se recomienda el uso de antibióticos, sólo el restablecimiento del equilibrio hidromineral. En las formas graves de la enfermedad, el antibiótico de elección es la eritromicina, aunque también se han utilizado la tetraciclina y el furazolidone. Otros agentes antibacterianos a los cuales demuestra sensibilidad este microorganismo son: la gentamicina, el cloranfenicol, la ampicilina y la carbenicilina. Los macrólidos claritromicina y azitromicina han demostrado una buena sensibilidad *in vitro*.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Supervivencia y transportación. Uno de los principales aspectos a considerar para tener un efectivo recobrado de este microorganismo a partir de las muestras estudiadas, ya sean muestras clínicas de alimentos u otras, son los métodos de transportación y el tiempo de transportación de las muestras. La causa del cumplimiento estricto de estos aspectos es la gran susceptibilidad de *Campylobacter* a las concentraciones de oxígeno y el peligro del sobrecrecimiento de enterobacterias de la flora intestinal normal. Por lo tanto, para tener un efectivo recobrado de estas bacterias es necesario la siembra inmediata o de no cumplirse con este requisito, su conservación en frío y envío en medios de transportación como son el medio de Stuart o el medio de Cary y Blair. La conservación debe evitarse, porque aun en las mejores condiciones el recobrado de aislamiento, según plantea Valdés-Dapena, disminuye en un 50 % después de 24 horas a 4 °C. Para la conservación de cepas, este mismo investigador plantea que los mejores recobrados se obtienen a -70 °C en albúmina, pudiendo conservarse las cepas hasta 17 meses en estas condiciones.

Los medios recomendados para el aislamiento de *Campylobacter* son las placas de agar-sangre realizadas con sangre de carnero o caballo hemolizadas por congelación y con medios altamente enriquecidos como el agar Columbia o el agar Brucella, a las cuales se les añaden algunos de los inhibidores anteriormente señalados. Los requisitos de incubación ya se explicaron en este capítulo y el tiempo de incubación antes de realizarse la lectura de la placa debe de ser de 48 horas. A partir de las colonias sospechosas de *Campylobacter* debe hacerse la oxidasa utilizando el método del papel de filtro.

Las colonias que son oxidasa positiva se llevan al microscopio de fase o al campo oscuro para observar el movimiento típico de estos microorganismos. Las cepas que presentan el movimiento típico son sometidas a las pruebas fisiológicas anteriormente descritas, para definir la especie y el biotipo.

Las muestras que no son heces fecales pueden sembrarse en placas de agar-sangre hemolizadas con las mismas características antes señaladas sin la adición de inhibidores, pues no son muestras contaminadas.

La determinación de serotipos se hace en los laboratorios de referencia y la técnica más frecuentemente utilizada es el método de aglutinación en lámina. Un diagnóstico rápido de colonias sospechosas de *Campylobacter* puede llevarse a cabo con el uso de aglutinación por látex, comercialmente asequible.

El estudio del ADN se puede realizar, fundamentalmente, en aquellos donde hay que hacer caracterización de cepas con fines epidemiológicos.

La determinación de anticuerpos circulantes IgM, IgG o IgA se puede realizar por ELISA. Otro método a menudo utilizado para la determinación de anticuerpos circulantes, es el test bactericida del suero del paciente afectado.

HELICOBACTER PYLORI

A partir de 1983 se comenzó a relacionar una bacteria de forma espirilar, que semejaba a *Campylobacter*, con la etiología de la gastritis tipo B en el hombre, ya que se había logrado su aislamiento a partir de la mucosa gástrica en casos con esta afección. El microorganismo que previamente se llamó *Campylobacter pylori*, en la actualidad se denomina *Helicobacter pylori* y es considerado un género dentro de la superfamilia VI rARN. Dentro de este género se han identificado como patógenos humanos a las siguientes especies de *Helicobacter*: *H. pylori*, asociado con gastritis y linfoma gástrico; *H. heilmannii*, asociado con gastritis; *H. CLO-3*,

asociado con proctitis; *H. fennelliae*, asociado con gastroenteritis, septicemia y proctocolitis; *H. sp.* cepa Mainz, asociado con artritis séptica; *H. cinaeli*, asociado con gastroenteritis, septicemia y proctocolitis; y *H. rappini*, asociado con gastroenteritis.

Helicobacter pylori se encuentra en la mucosa gástrica y en las criptas del estómago y están protegidos por el moco de la acidez gástrica, a la cual ellos son altamente susceptibles. Se pueden hallar, también, en el duodeno, pero en esta localización están asociados a la mucosa gástrica metaplásica. Nunca se ha reportado su presencia causando bacteriemia, pero en realidad esto no es dato de gran certeza por la dificultad que existe para su aislamiento, ya que en los medios de cultivo que se utilizan rutinariamente en los laboratorios microbiológicos de diagnóstico, ellos son incapaces de multiplicarse.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Las características que diferencian a *H. pylori* de *Campylobacter* son, esencialmente, la superficie de la colonia que es más lisa en *H. pylori* que en *Campylobacter*, la producción de ureasa por *Helicobacter pylori* y la presencia en los extremos de cuatro a seis flagelos, a diferencia de *Campylobacter* que presenta un solo flagelo en cada extremo. La presencia de ácido graso único en su estructura es otra de sus peculiaridades.

CUADRO CLÍNICO

El cuadro clínico a que da lugar la infección por *Helicobacter* está en dependencia de la especie que produzca la infección, según se señaló con anterioridad.

EPIDEMIOLOGÍA

El único reservorio es el hombre, siendo su hábitat el estómago; no se han descrito otras fuentes de infección.

La frecuencia en la enfermedad gástrica aumenta con la edad y es variable según las diferentes etnias. Existe una mayor incidencia entre familias o instituciones cerradas, lo que sugiere la transmisión de persona a persona.

TRATAMIENTO

Helicobacter pylori es susceptible a la eritromicina, tetraciclina, penicilina, gentamicina, cefalotina, clindamicina, ciprofloxacina, nitrofurantoína y rifampicina. Es resistente a: cefsulidina, ácido nalidíxico, sulfamidas, trimetoprim, sulfametoxazol y vancomicina. De los tratamientos utilizados para la úlcera gástrica, es susceptible al subcitrato de bismuto y resistente a la cimetidina, ranitidina y el sucralfato a los niveles utilizados.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

La muestra utilizada para el aislamiento de *H. pylori* puede provenir de biopsias gástricas, aspirados o cepillados, siendo la biopsia la que mejor resultados de aislamientos arroja. Los microorganismos, a partir de estas muestras, pueden identificarse por medio de coloraciones; por el uso del microscopio de contraste de fase; por la prueba de la ureasa, que es un método presuntivo; o por medio de los cultivos, que es el método de elección.

Las muestras para proceder a la identificación del microorganismo deben ser previamente maceradas con solución salina fisiológica. Los medios a inocular son las mismas bases que las utilizadas para *Campylobacter*, pero los inhibidores recomendados difieren de los indicados para este microorganismo. Se sugiere el uso del inhibidor de Marshall (vancomicina 6 mg/L, ácido nalidíxico 20 mg/L y anfotericina 2 mg/L). Los medios con suplementos de hierro están contraindicados para el aislamiento de *H. pylori*; se recomienda una alta humedad para su mejor recobrado. La temperatura de incubación es de 37 °C, y el tiempo hasta 7 días, por lo que se observa la posibilidad de crecimiento al tercer o cuarto día; la concentra-

ción de oxígeno tolerada por el microorganismo es de un 5 a 6 %, debido a lo cual debe incubarse en condiciones de microaerofilia.

A partir de los cultivos, se aprecian colonias de muy pequeño tamaño, translúcidas. Las colonias son sometidas a la prueba de la oxidasa, ureasa y catalasa positivas.

No existe un esquema de clasificación serológica para este microorganismo, utilizándose, en estudios epidemiológicos, la restricción del ADN para su clasificación.

Los estudios para la determinación de anticuerpos se pueden llevar a cabo por la prueba de ELISA o por aglutinación en látex.

RESUMEN

En la actualidad *Campylobacter* y *Helicobacter* se clasifican en el taxon de la superfamilia VI rARN, perteneciendo *Campylobacter* al grupo I y *Helicobacter* al grupo III. Las especies y patologías más frecuentemente asociadas a enfermedades en el hombre son: *C. jejuni* y gastroenteritis o enteritis, y *H. pylori* y gastritis o úlcera gástrica. Las condiciones de aislamiento tienen altos requerimientos de nutrientes y atmósferas microaerofílicas. La fuente de infección en *Campylobacter* es, principalmente, de origen animal; mientras que en *Helicobacter* el único reservorio es el hombre. El diagnóstico indirecto puede realizarse en ambos microorganismos por la detección de anticuerpos en los pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

- Alm R, Guerry P, Powe ME et al. Analysis of the role of flagellin in the heat-labile Lior serotyping scheme of thermophilic campylobacters by mutant allele exchange. *J Clin Microbiol* 1991;30:207-10.
- Ashkenai S, Cleary T. *Campylobacter*. En: Behrman R, Kliegman R, Arvin A (eds). Nelson. Tratado de Pediatría. 15ta ed. La Habana: Ed. Ciencias Médicas, 1998:1005-7.
- Atkins J, Cleary T. *Helicobacter*. En: Behrman R, Kliegman R, Arvin A. Nelson. Tratado de Pediatría. 15ta ed. La Habana: Ed. Ciencias Médicas, 1998:1007-9.
- Blaser MJ. *Helicobacter pylori*: its role in disease. *Clin. Infect. Dis*, 1992;386-90.
- Bourke B, Cahn VL, Sherman P. *Campylobacter upsaliensis*: Waiting in the Wings. *Cl Microb Rev* 1998;11(3):440-9.
- Dewhirst F, Seymour E, Fraser G, Jet al. Phylogeny of *Helicobacter* isolates from birds and swine feces and description of *Helicobacter pamatensis* sp. *Int J Syst Bacteriol* nov.1994;44:553-60.
- Falkow S, Mekalanos J. Bacilos entéricos y vibrios. En: Davis B, Dulbecco R, Eisen H, Ginsberg H (eds). Tratado de Microbiología Clínica. 4ta ed. Barcelona: Masson SA, 1996:541-66.
- George-Courbot MC, Baya C, Beraud AM et al. Distribution and serotypes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in enteric *Campylobacter* strains isolated from children in the Central African Republic. *J Clin Microbiol* 1986;23:592-4.
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg A (eds.). Manual de Microbiología Médica. 15ta ed. en español. México D.F.: Ed. El Manual Moderno SA, 1996:273-81.
- Kaplan R, Weissfeld A. *Campylobacter*, *Helicobacter* and related microorganism. In: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF et al. (eds.). Clinical and Pathogenic Microbiology. 2nd ed. St Louis: Mosby-Year Book, Inc., 1994:299-336.
- Nachamkin I, Mishu B, Ho T. *Campylobacter* species and Guillain-Barré Syndrome. *Cl Microb Rev* 1998;11(3):555-67.
- On SLW. Identification methods for campylobacters, helicobacters and related organism. *Cl Microb Rev* 1996;9(3):405-22.
- OPS. El control de las enfermedades transmisibles en el hombre. *Publ Cient* No. 442, 1997.
- Pennie R, Pearson R, Barrett L et al. *Inf. Inm.*, 1986;52(3):702-6.
- Romero Cabello R. Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. México D.F.: Ed. Médica Panamerica, 1997:316-21.
- Valdés-Dapena MM, Adam M. Survival of *Campylobacter jejuni* in different media and faeces at different temperatures and times of preservation. *Acta Microbiologica Hungarica*, 1983;30(1):69-74.
- Valdés-Dapena MM. Development of diagnosis of enteropathogenic bacteria with special emphasis on *Campylobacter*. (Dissertation) Budapest (Hungary): Univ. Semmelweis, 1984.
- Valdés-Dapena MM, Guerra M, Castilla MH, García DM. Búsqueda de *Campylobacter fetus* ssp. *jejuni* en heces fecales de enfermos. *Rev Cub Med Trop* 1984;36:343-51.
- Valdés-Dapena MM, Rodríguez O, Gorrín N, Jorrín M. Etiología bacteriana de la enfermedad diarreica aguda. *Rev Soc Bol Ped* 1992;31(3):63-6.
- Valdés-Dapena MM, Sagaró E, Fragoso T. Incidencia de bacterias patógenas entéricas en la diarrea persistente. *Rev Soc Bol Ped* 1992;31(3):67-9.
- Wooldridge KG, Ketley JM. *Campylobacter*-host cell interactions. *Trends in Microbiology* 1997;5(3):96-101.

Capítulo

35

CONSIDERADAS como hongos en el pasado, pero en la actualidad se ha demostrado que corresponden al orden Actinomycetales, del griego aktino, rayo, y mikes, hongos, por la conformación en **forma radial** en los **gránulos** formados en las lesiones de los tejidos.

Los actinomicetos constituyen un grupo heterogéneo de bacterias filamentosas, las cuales están relacionadas con las corinebacterias y las micobacterias, y que superficialmente se parecen a los hongos.

Estas bacterias son bacilos de crecimiento lento, grampositivas, con tendencia a ramificarse. Esos filamentos son de 0,5 a 1,0 μ m de diámetro, por lo tanto, son más pequeños que las hifas de los hongos; los mismos se segmentan a medida que van creciendo y forman bacilos que semejan a los difteroides. Se multiplican por fisión binaria, esporulación o fragmentación. Los constituyentes de la pared celular están dados por el ácido diaminopimélico (DAP), glicina, meso-DAP, arabinosa, galactosa, lisina y por ácido aspártico; estos son estables y, por tanto, útiles para la identificación.

Forman parte de la flora normal de la piel, orofaringe y tracto gastrointestinal del hombre y los animales, encontrándose, además, en el suelo y las plantas.

Los actinomicetos son bacterias tanto aerobias (*Nocardia* sp., *Streptomyces* sp.) como anaerobias (*Actinomyces*, *Arachnia*, *Bifidobacterium*). Son importantes *tres géneros en la afección humana*: *Actinomyces*, *Nocardia* y *Streptomyces*. Estos géneros tienen *varias especies que producen lesiones* muy parecidas desde el punto de vista histológico y de evolución crónica.

A c t i n o m y c e s

El género *Actinomyces* se incluye en la familia **IA ACTINOMYC**etaceae y comprende 13 especies:

- | | | |
|------------------------|--------------------|---|
| <i>A. israelii</i> * | <i>A. mayeri</i> * | <i>A. hordeovulneris</i> |
| <i>A. naeslundii</i> * | <i>A. bovis</i> | <i>A. humiferus</i> (se ha encontrado solo en el suelo) |

<i>A. odontolyticus*</i>	<i>A. denticolens</i>	<i>A. pyogenes*</i>
<i>A. viscosus*</i>	<i>A. howellii</i>	<i>A. slackii</i>
<i>A. suis</i>		

* *Causan enfermedades en los humanos. De los anteriores, el *A. israelii* es el más importante en las afecciones humanas y el *A. bovis* en enfermedades del ganado.*

El hábitat normal de *Actinomyces** son las membranas mucosas y la cavidad oral, y se consideran patógenos oportunistas; el resto de las especies no han sido aisladas en el hombre.

Actinomyces pyogenes y *A. mayeri* se han encontrado, en gran medida, en la saliva y en la placa subgingival. *A. viscosus* y *A. naeslundii* han sido ampliamente estudiados, y se conoce que desempeñan un importante papel en las caries dentales y en la enfermedad periodontal.

Los actinomicetos producen la actinomycosis, la cual es una afección crónica, que afecta por igual a hombres y mujeres, con una distribución anatómica de aproximadamente un 60 % cervicofacial, un 15 % torácica, un 20 % abdominal y un 5 % en otras regiones. Se caracteriza por lesiones granulomatosas, firmemente induradas, purulentas y fibróticas, que difunden lentamente a los tejidos contiguos y pueden formar múltiples fistulas supurantes, que penetran en la superficie. Las secreciones de los trayectos fistulosos pueden contener gránulos de azufre, los cuales constituyen colonias del agente infeccioso. Esta afección la provocan, principalmente, los géneros *Actinomyces* y *Arachnia*.

Morfología e identificación

Microorganismos típicos. Soli, NBACILOS GRAMPOSITIVOS, INMóviles, no esporulados, sin cápsula, anaerobios estrictos o microaerófilos, de crecimiento lento, con tendencia a ramificarse y segmentarse a medida que van creciendo.

Pared celular. Contiene lisina, ácido aspártico y ornitina. **Similar a** la pared celular de los *Bifidobacterium*.

Patogenia

Los actinomicetos forman parte de la flora de LA BOCA, P ues se localizan en amígdalas y encías; son patógenos oportunistas, generalmente se manifiestan después de un traumatismo, de cirugía dental, aspiración o ingestión de material altamente contaminado, requiriéndose un terreno fértil para que la bacteria proliferen. Una vez alterada la integridad de la mucosa oral, estos microorganismos patógenos oportunistas, presentes en la saliva, penetran a través de esta y mediante sus estructuras filamentosas radiales logran llegar a la piel, donde se produce inflamación local y necrosis, con la consiguiente formación de abscesos, úlceras y fistulas, a través de las cuales drena el material purulento, originándose zonas de fibrosis en los límites de la lesión e invadiendo otros tejidos (tejido celular subcutáneo, tejido óseo y pulmón). Dichos microorganismos pueden ser inhalados o deglutidos.

Datos clínicos

El cuadro clínico depende de la localización ANATÓMICA Del agente causal. En el caso de la actinomycosis cervicofacial, la localización puede ser maseterínica o de las mejillas, submaxilar, parotídea, carotídea y supraclavicular, cuyas manifestaciones clínicas están dadas por presencia de trismus, dificultad para masticar, aumento de volumen y aspecto globoso, aparición de fistulas y abscesos con ulceraciones y exudados purulentos. En pocas ocasiones, aunque puede suceder, las lesiones se profundizan y se extienden al tejido óseo como, por ejemplo, el cráneo y hasta las meninges.

Cuando la actinomycosis se localiza a nivel torácico, es posible que exista una inoculación a nivel pulmonar, dando un cuadro caracterizado por fiebre, tos, expectoración mucopurulenta y hemoptoica; también aparecen lesiones en la pared torácica caracterizadas por aumento de volumen, fistulas, úlceras y exudados seropurulentos. En el caso de la

actinomicosis torácica hay que hacer diagnóstico diferencial con la tuberculosis, coccidioidomicosis y el micetoma.

Otra zona de localización de la enfermedad puede ser a nivel abdominal (forma menos frecuente) por la ingestión de material contaminado o por extensión de la región pulmonar que se abre a la cavidad abdominal, o por una lesión a nivel intestinal que permite que los actinomicetos invadan la región ileocecal produciendo cuadros de apendicitis subaguda, la cual puede ser exteriorizada a la pared abdominal o a la región perianal provocando abscesos que se fistulizan. Pueden producir un cuadro similar al carcinoma cuando se afecta el colon transversal o invadir la columna vertebral produciendo compresión. *Actinomyces* es causante de inflamación pélvica y está *en relación* con el uso de dispositivos intrauterinos.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Muestras. Pus de las **FÍSTULAS Y ESPUTOS, EN LOS QUE PUEDE EN APARECER LOS GRÁNULOS DE AZUFRE** que están formados por un centro denso con sales de calcio y fibrina, rodeados por bacilos grampositivos similares a Difteroides; estos son de color carmelita, amarillo o blanco, con un diámetro de 2,5 mm, de consistencia firme y de forma esférica.

Frotis. Al ser coloreados con tinción de Gram se observan **bacilos** grampositivos ramificados y segmentados.

Cultivo. Se realizan a pH entre 6,8 y 7,5. Se pueden emplear medios de cultivo tales como: agar-sangre (con un 5 % de sangre de carnero) suplementado con hemina y vitamina K, infusión cerebro-corazón, agar Brucella, agar Schaedler modificado, agar-sangre feniletil alcohol y tioglicolato.

Un medio de cultivo con sangre para anaerobios enriquecido con medio de tioglicolato, soporta el crecimiento de estos microorganismos.

Si la muestra de pus del paciente contiene gránulos de azufre, estos deben depositarse en una placa de Petri estéril, enjuagarse con caldo de tioglicolato, y posteriormente ser transferida con pipeta Pasteur estéril a un tubo estéril con 0,5 mL de caldo tioglicolato. El gránulo de azufre debe ser triturado con la punta de una varilla de cristal estéril y luego inocular una gota de dicho material en placas de agar-sangre y agar-sangre feniletil alcohol, estriada e incubada bajo condiciones de anaerobiosis. El caldo de tioglicolato debe ser inoculado con dos gotas de dicho material e incubado en anaerobiosis, y los tubos con el mismo deben mantener las tapas de rosca flojas para permitir el intercambio con dicha atmósfera anaerobia.

Los medios deben ser incubados en jarras o cámaras anaeróbicas a temperatura de 35 a 37 °C; los cultivos deben ser examinados después de 48 horas y reincubados por 5 a 7 días. De ser necesario, estos se incubarán de forma prolongada de 2 a 4 semanas, recomendándose para ello el uso de jarras de anaerobiosis para evitar la desecación; se emplean, además, toallas de papel, las cuales se sitúan en las tapas de las placas de cultivo, para que se absorba la humedad que se colecta con la condensación.

Debido a la gran cantidad de microorganismos que son aislados conjuntamente con los actinomicetos provenientes de lesiones cervicales y dispositivos intrauterinos, Traynor et al. describieron un método a través del cual los hisopados son embebidos en 5 mL de caldo de tioglicolato y las muestras son diluidas de 10 en 10 en el mismo medio (con diluciones 10⁻¹ a 10⁻⁴). Las diluciones se siembran en placas de agar-sangre Columbia con metrodinazol (2,5 mg/L).

Pruebas fisiológicas. Son catalasa negativa, indol negativo, **algunas especies** reducen nitrato a nitrito, excepto *A. mayeri*; fermentan la glucosa y producen ácidos grasos detectables por cromatografía en gas líquido: ácido acético, ácido láctico, ácido succínico.

Métodos comerciales rápidos

Entre estos métodos tenemos:

1. **Cromatografía en gas líquido** por AN-Identif.
2. RapID ANA II Sistem.
3. API-ZYM Sistem.
4. MicroScan.

T r a t a m i e n t o

No existe restablecimiento espontáneo. Suele **SER EFICAZ** la administración prolongada de penicilina a altas dosis. Otras drogas eficaces son: tetraciclinas, que constituyen la segunda opción; eritromicina, estreptomycinina y cloranfenicol. A menudo se requiere el drenaje quirúrgico.

Epidemiología y control

Agente infeccioso: *A. israelii* **ESEL PRINCIPAL PATÓGENO** en el hombre y *A. bovis* en los animales, que rara vez se aísla en los *humanos*. Se ha informado que otras especies de *Actinomyces* y *Arachnia propionica* son también patógenas *para el hombre*.

Distribución: esta enfermedad es poco frecuente en el hombre y se presenta esporádicamente en todo el mundo; afecta a todas las razas y a ambos sexos de cualquier edad, y se observa con mayor frecuencia en edades entre los 15 y 35 años.

Reservorio: el reservorio natural del *A. israelii* es el hombre; en la cavidad bucal normal este *microorganismo* se desarrolla como saprófito dentro y alrededor de los dientes careados, en las placas de mucina adheridas al esmalte dental y en criptas amigdalinas, sin penetración aparente ni respuesta celular en los tejidos adyacentes. Se ha detectado *A. israelii* en las secreciones vaginales de cerca del 10 % de las mujeres que usan dispositivos intrauterinos.

Modo de transmisión: parece ser que el microorganismo pasa por contacto de un individuo a otro como parte de la flora oral normal. La infección es, generalmente, endógena; desde la cavidad oral, el microorganismo puede ser ingerido, inhalado o introducido en los tejidos de la mandíbula mediante una lesión o en el sitio de un defecto dental descuidado o irritante.

Período de incubación: irregular, probablemente dura muchos años después de la formación de colonias en los tejidos orales, y días o meses después del trauma desencadenante y de la penetración en los tejidos.

Período de transmisibilidad: se desconoce el tiempo y la manera como *A. israelii* pasa a formar parte de la flora oral normal.

Prevención: no existen medidas preventivas, excepto el mantenimiento de una buena higiene dental, que reducirá el riesgo de infección alrededor de los dientes.

N o c a r d i a

El género *Nocardia* se incluye en la familia *NocARDIACEAE*, que comprende varias especies: *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis* y *Nocardia otitidiscaviarum*, siendo las dos primeras las de mayor importancia; causan el micetoma y la nocardiosis, enfermedades crónicas que se inician, con frecuencia, en los pulmones (por inhalación de los microorganismos) y que por diseminación hematogena producen abscesos cerebrales, del tejido subcutáneo y de otros órganos. *N. asteroides* es la especie más común como causa de enfermedad.

La nocardiosis está caracterizada por abscesos múltiples y confluentes, con intensa supuración. La respuesta típica del tejido es una reacción inflamatoria purulenta y necrotizada.

Cuando los pulmones están afectados, la infección puede extenderse a la pleura, lo cual puede ocasionar un empiema.

La nocardiosis es una enfermedad que se observa en pacientes inmunocomprometidos. La infección pulmonar y generalizada incrementa su incidencia en pacientes que reciben tratamiento con esteroides y citostáticos y quimioterápicos; se observa también asociada a enfermedades debilitantes como: leucemia, linfomas, SIDA. Otras condiciones predisponentes incluyen la enfermedad pulmonar crónica, ileítis crónica, colitis crónica, cirrosis y transplantes.

Morfología e identificación

Microorganismos típicos. Son **BACILOS Y FORMAS COCIDES** Gram positivos, inmóviles, no esporulados, no capsulados, aeróbicos, de crecimiento lento, con filamentos con tendencia

a ramificarse y segmentarse a medida que van creciendo, produciendo un micelio parecido al de los hongos. Se consideran microorganismos parcialmente ácido-alcohol resistentes.

Pared celular. Está constituida por el ácido murámico, el **ácido diaminopimélico** y la lisina. No contienen membrana nuclear y carecen de organelos intracelulares.

P a t o g e n i a

La nocardiosis se adquiere por la inhalación de **LOS MICRO**organismos contenidos en el polvo, provenientes del suelo o de las plantas donde estos proliferan. Una vez en el tejido pulmonar, *Nocardia* produce inflamación granulocítica aguda con *formación* de abscesos, necrosis y fibrosis. Puede ocurrir diseminación hematogena a otros órganos, principalmente al cerebro, donde provoca daño del tejido con formación de abscesos.

En el micetoma, los microorganismos contenidos en el suelo, fundamentalmente la *Nocardia brasiliensis*, penetran en la piel traumatizada y *expuesta*, *originan* un síndrome linfocutáneo similar a la esporotricosis.

Datos clínicos

En la nocardiosis, enfermedad que se adquiere **POR LA INH**alación de bacilos del suelo o de las plantas donde prolifera el agente causal, las manifestaciones clínicas son muy similares a las de la tuberculosis, con tos crónica, febrícula vespertina, sudoración nocturna, pérdida de peso, anemia y expectoración mucopurulenta y hemoptoica. La enfermedad puede progresar y producir bronconeumonía, infiltrados localizados o difusos, extensión de la consolidación, abscesos simples o múltiples, efusión pleural, empiema y formación de trayectos que afectan la pared del tórax. Puede ocurrir una diseminación hematogena en el 50 % de los casos, y afectarse otros órganos. Los abscesos cerebrales metastásicos dan lugar a cefalea, cambios del estado mental y déficit local neurológico.

El micetoma es una infección crónica que se adquiere por contacto con *N. brasiliensis* del suelo; generalmente las lesiones *se localizan* en los pies, pero pueden estar en cualquier región. Se manifiesta por un absceso indoloro en el sitio de penetración del bacilo, la evolución es muy lenta, la infección va invadiendo los tejidos poco a poco, se observa drenaje del pus por una o varias fístulas; al invadir los tejidos, los destruye y se forma una gran fibrosis.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Muestras de las **FÍSTULAS, ESPUTOS, LÍQUIDOS CEFALORRAQUIOS** y biopsias de tejidos.

Frotis. Con coloración de Gram se observa bacilos gram **positivos** ramificados y segmentados, y formas cocoides. Con tinción de Ziehl-Neelsen se aprecian bacilos ácido-alcohol resistentes de forma parcial. Se pueden emplear otras tinciones como hematoxilina y eosina, Giemsa y coloraciones con metenamina de plata.

Cultivo. Crecen bajo condiciones de aerobiosis en agar **Sabouraud** dextrosa a temperatura entre 35 y 37 °C durante un período de 5 días a 2 semanas. Se desarrollan bien en medios de Löwensteins-Jensen.

Las colonias crecen en 1 a 2 semanas como partículas húmedas y rugosas, de color naranja, apiladas o amontonadas, rugosas; pueden encontrarse colonias blancas o rosadas con hifas aéreas, secas y adherentes.

Pruebas fisiológicas. Se realiza la hidrólisis de la caseína, **xantina**, **hipoxantina**, tirosina y urea, crecimiento en gelatina y prueba de resistencia a la lisozima. También se emplea la fermentación de carbohidratos, como el inositol y el manitol.

T r a t a m i e n t o

El tratamiento de elección es con sulfonamidas, **LAS CUA**les en altas dosis son eficaces en las infecciones generalizadas, si se administran al comienzo de la enfermedad y durante períodos prolongados. Algunas cepas son sensibles a la ampicilina, amikacina y minociclina.

Epidemiología y control

Agente infeccioso: *N. asteroides* (EN EL 90% DE LOS CASOS), *N. brasiliensis* y *N. otitidis* caviarum.

Distribución: la enfermedad se presenta esporádicamente en el hombre y en los animales en todas partes del mundo. No hay diferencia en cuanto a raza y edad, aunque se ha observado que el 75 % de los casos ocurre en los hombres.

Reservorio: el suelo. Es parte de la flora transitoria del tracto respiratorio (*N. asteroides*).

Modo de transmisión: las especies de *Nocardia* se introducen en el cuerpo por inhalación de polvo, localizándose esta a nivel de pulmón.

Período de incubación: se desconoce, probablemente varias semanas.

Período de transmisibilidad: no se transmite directamente de una persona a otra ni de animales al hombre.

Susceptibilidad: se desconoce. *N. asteroides* es un patógeno oportunista en individuos comprometidos y con enfermedades debilitantes como: leucemias, linfomas malignos, asma, fibrosis quística, bronquiectasias, tuberculosis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, hemocromatosis, colitis ulcerativa, alcoholismo, cirrosis, SIDA, entre otras.

Prevención: no existen medidas preventivas.

Streptomyces

El género se incluye en la familia Streptomycetaceae, que comprende varias especies; de ellas, son de importancia *S. somaliensis* y *S. paraguayensis*, agentes causales de micetoma. Estos microorganismos habitan en el suelo.

Morfología e identificación

Microorganismos típicos. Son GRAMPOSITIVOS, CON HIFAS QUE SE FRAGMENTAN; se pueden observar varillas o bastoncillos cortos y formas cocoides. El micelio aéreo produce cadenas de conidios o artrosporas; las hifas tienen un diámetro de 0,5 a 2 μ m. Son aerobios y no móviles.

Pared celular. Contiene ácido diaminopimélico y poca arabinosa.

Patogenia

El microorganismo penetra a través de heridas o TRAUMAS de la piel expuesta al suelo o al polvo; el agente llega al tejido subcutáneo (de los pies, manos o espalda) y forma focos necróticos y fibrosis con formación de abscesos que pueden extenderse a través de todo el músculo e, inclusive, llegar al hueso mediante trayectos fistulosos crónicos. El agente puede observarse como un gránulo compacto en el pus. Las lesiones no tratadas persisten durante años y se extienden en profundidad, provocando deformidad y pérdida de la función.

Datos clínicos

La enfermedad se caracteriza por tumefacción y SUPURACIÓN del tejido subcutáneo, con formación de trayectos fistulosos y úlceras con costras que drenan un exudado seropurulento y gránulos visibles en el pus que drena de esos trayectos. Las lesiones suelen localizarse en los pies o parte posterior de las piernas; a veces en manos, hombros y espaldas; rara vez se encuentra en otros sitios. Los gránulos son de consistencia dura, amarillos y con un diámetro de 0,5 a 2 mm.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Muestras de pus de lesiones, FUNDAMENTALMENTE, EN MIEMBROS inferiores y tejidos blandos.
Frotis. Coloreado con tinción de Gram se visualizan finos filamentos ramificados y entrelazados, no segmentados, que forman cadenas de esporas grampositivas.

Cultivo. Crecen en agar Sabouraud dextrosa en condiciones de aerobiosis a temperatura entre 25 a 35 °C y pH entre 6,5 a 8, donde se observan colonias apiladas, rugosas, con una pigmentación que varía de crema a carmelita negruzco con hifas aéreas.

Pruebas fisiológicas. Este microorganismo puede hidrolizar la hipoxantina, xantina, caseína, gelatina y almidón. Generalmente reduce los nitratos a nitritos.

Tratamiento

La cirugía es casi la única opción, empleándose la resección de lesiones pequeñas y la amputación de la extremidad cuando la lesión está avanzada. Las sulfonamidas tienen menos efectos que cuando se aplican contra *Nocardia*.

Resumen

Los actinomicetos son bacterias que fueron consideradas como hongos en el pasado, pero en la actualidad se clasifican como bacterias del orden Actinomycetales. Son bacilos grampositivos con tendencia a ramificarse y de crecimiento lento.

Son importantes tres géneros en la infección humana: *Actinomyces*, *Nocardia* y *Streptomyces*, los cuales tienen varias especies que producen lesiones muy parecidas entre sí desde el punto de vista histológico, y que ocasionan lesiones de evolución crónica.

El género *Actinomyces* incluye 13 especies, de las cuales *A. israelii* es la de mayor importancia médica, pues produce la actinomicosis, cuyas formas clínicas más frecuentes son: cervicofacial (60%), torácica (15%) y abdominal (20%), caracterizada por la formación de abscesos crónicos destructivos que drenan material purulento por una o varias fístulas, en los que se pueden visualizar los gránulos de azufre. El diagnóstico se hace por cultivo e identificación de la cepa, además, existen sistemas de identificación comercializados. El tratamiento es con penicilina a altas dosis, durante largos períodos.

El género *Nocardia* incluye tres especies, de las cuales dos son de importancia en infección humana: *N. asteroides*, que produce infección a nivel del pulmón conocida como nocardiosis; y *N. brasiliensis*, uno de los agentes causales de micetoma. El diagnóstico se hace por la identificación de las especies; el tratamiento se realiza con sulfonamidas y cirugía conservadora.

El género *Streptomyces* incluye varias especies, de ellas causan micetomas: *S. somaliensis* (el más frecuente) y *S. paraguayensis*; el diagnóstico se hace mediante cultivo e identificación del agente y el tratamiento es, fundamentalmente, quirúrgico.

Bibliografía

- Benenson AS (ed.). Actinomicosis. En: El Control de las Enfermedades Transmisibles en el Hombre. PC. No. 442. La Habana: Ed. Científico-Técnica, 1985:95-104.
- Hiller S, Moncla BJ. Anaerobic Gram-Positive Nonsporeforming Bacilli and Cocci. In: Balows A, Hausler W, Hermann K et al. (eds.). Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. Washington: American Society for Microbiology, 1991:522-37.
- Holt JC, Bryant MP, Krieg NR, Lapage SP et al. (eds.). Actinomycetes and Related Organisms. In: The Shorter Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th ed. Baltimore: Md, Waverly Press, Inc., 1977:248-51.
- Howard BJ, Keiser JF. Anaerobic Bacteria. In: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF et al. (eds.). Clinical and Pathogenic Microbiology. 2nd ed. St Louis: Mosby-Year Book Inc., 1994:383-423.
- Kobayashi GS. Actinomicetos: Bacterias Parecidas a Hongos. En: Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS (eds). Tratado de Microbiología Clínica. 4ta ed. Barcelona: Masson SA, 1996:637-43.
- Koneman EW, Allen SD, Dowell VR (Jr), Jarda W Met al. (eds.). The aerobic Gram-Positive Bacilli. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 3rd ed. Philadelphia: J.B. Lippincott Company, 1988:355-91.
- Land G, McGinnis MR, Stanek J, Gaston A. Aerobic Pathogenic Actinomycetales. In: Balows A, Hausler W, Hermann K et al. (eds.). Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. Washington: American Society for Microbiology, 1991:340-59.
- McGinnis MR, Tilton RC. Pathogenic Aerobic Actinomycetes. In: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF et al. (eds.). Clinical and Pathogenic Microbiology. 2nd ed. St Louis: Mosby-Year Book Inc., 1994:577-81.
- Roche Cabello R. Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. 2da ed. México D.F.: Ed. Médica Panamericana, 199



Micobacterias

Ernesto Montoro Cardoso
Odelaisy Suárez Moreno
José A. Valdivia Álvarez

INTRODUCCIÓN

Las micobacterias pertenecen al orden Actinomycetales, familia *Mycobacteriaceae*. Son bacilos delgados, aerobios, no esporulados, no capsulados e inmóviles. Aunque no se tiñen con facilidad, una vez que captan el colorante (fucsina fenicada con calor) resisten a la decoloración con alcohol acidificado y por ello se les llama bacilos ácido-alcohol resistentes o BAAR. Esto constituye su principal característica y se debe a la composición de su pared celular, rica en lípidos de alto peso molecular.

Las micobacterias de importancia patógenas al hombre son: *Mycobacterium tuberculosis*, causa tuberculosis (TB); *Mycobacterium leprae*, causa lepra; *Mycobacterium avium-intracellulare* (complejo *M. avium*) y otras micobacterias atípicas, que infectan frecuentemente a pacientes con SIDA, son patógenos oportunistas en otras personas con afección inmunitaria y, en ocasiones, causan enfermedad en pacientes con el sistema inmunitario normal. Existen más de 50 especies de micobacterias, incluyendo muchas que son saprófitas. El espectro de las micobacteriosis es muy amplio y comprende muy diversos cuadros clínicos producidos por diferentes especies. En el Cuadro 36.1 se muestra una lista de las principales micobacterias que infectan al ser humano.

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. En los tejidos, *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) es un bacilo recto y delgado que mide casi $0,4 \times 3 \mu\text{m}$. En medios artificiales se observan formas cocoides y filamentosas con morfología variable de una especie a otra. Las micobacterias no pueden ser clasificadas como microorganismos grampositivos o gramnegativos. Una vez teñidos con los colorantes básicos no se pueden decolorar con

Cuadro 36.1. Patogenicidad de las micobacterias

	Especie	Reservorio	Manifestaciones clínicas
Especies consideradas siempre	<i>M. tuberculosis</i>	Humanos	Tuberculosis pulmonar y diseminada
	<i>M. leprae</i>	Humanos	Lepra
	<i>M. bovis</i>	Humanos, ganado bovino	Enfermedad similar a tuberculosis. <i>M. bovis</i> está estrechamente vinculado con el <i>M. tuberculosis</i>
Especies potencialmente patógenas en humanos	Causas relativamente comunes de enfermedad		
	Complejo <i>M. avium</i>	Suelo, agua, aves, pájaros, cerdos, ganado bovino, ambiente	Diseminada, pulmonar; muy común en pacientes con SIDA; se presenta también en otros pacientes inmunodeficientes; poco común en pacientes con sistema inmunitario normal
	<i>M. kansasii</i>	Agua, ganado bovino	Pulmonar, otros sitios
	Causas poco comunes o muy raras de enfermedad		
	<i>M. africanum</i>	Humanos, monos	Cultivos pulmonares; semeja <i>M. tuberculosis</i> ; rara
	<i>M. genavense</i>	"Humanos", "pájaros mascota"	Sangre en pacientes con SIDA. Crece en 2 a 8 semanas
	<i>M. haemophilum</i>	Desconocido	Nódulos subcutáneos, úlceras, principalmente en pacientes con SIDA; requiere hemoglobina o hemina; crece entre 28 a 32 °C; raro
	<i>M. malmoense</i>	Desconocido, ambiente	Pulmonar, similar a tuberculosis (adultos), ganglios linfáticos (niños). Estrechamente vinculado con <i>M. avium-intracellulare</i> ; requiere 8 a 12 semanas para crecer
	<i>M. marinum</i>	Peces, agua	Nódulos subcutáneos y abscesos, úlceras cutáneas
	<i>M. scrofulaceum</i>	Suelo, agua, alimentos húmedos	Linfadenitis cervical; habitualmente curada por incisión, drenaje y extirpación de los ganglios linfáticos afectados
	<i>M. simiae</i>	Monos, agua	Pulmonar, diseminada en pacientes con SIDA; rara
	<i>M. szulgai</i>	Desconocido	Pulmonar, similar a tuberculosis; rara
	<i>M. ulcerans</i>	Humanos, ambiente	Nódulos subcutáneos y úlceras; puede ser grave; está estrechamente vinculada a <i>M. marinum</i> ; requiere 6 a 12 semanas para crecer; crecimiento óptimo a 33 °C; sugiere procedencia ambiental; raro
	<i>M. xenopi</i>	Agua, pájaros	Pulmonar, similar a tuberculosis con enfermedad pulmonar preexistente; raro
	De crecimiento rápido		
<i>M. fortuitum</i> <i>M. chelonae</i>	Suelo, agua, animales, vida marina	Lesiones cutáneas es lo más común; abscesos subcutáneos, infección diseminada; crece en < 7 días; <i>M. fortuitum</i> es más susceptible a los antibióticos	
Especies saprófitas que muy rara vez causan enfermedad	<i>M. gordonae</i>	Agua	Estas especies saprófitas de <i>Mycobacterium</i> son causa muy poco común de enfermedad en humanos. Los cultivos positivos para estas micobacterias habitualmente significan contaminación ambiental de las muestras y no enfermedad. Muchas de las micobacterias saprófitas crecen mejor a temperatura < 33 °C
	<i>M. flavescens</i>	Suelo, agua	
	<i>M. gastri</i>	Lavado gástrico	

alcohol, independientemente del tratamiento con yodo. Los verdaderos bacilos tuberculosos están caracterizados por su resistencia al alcohol y a los ácidos; por ejemplo, el alcohol etílico a 95 % con 3 % de ácido clorhídrico (alcohol-ácido) decoloran con rapidez todas las bacterias, excepto las micobacterias. Esta resistencia al alcohol y a los ácidos depende de la integridad de la cubierta de cera. Se emplea la técnica de Ziehl-Neelsen para la identificación

de las bacterias ácido-alcohol resistentes. En frotis de esputo o cortes de tejidos, puede demostrarse la presencia de micobacterias mediante la fluorescencia amarillo-naranja, después de teñir con colorantes derivados de fluorocromo (por ejemplo, auramina, rodamina).

Cultivo. Los medios para el cultivo primario de las micobacterias deben incluir un medio no selectivo y un medio selectivo. Los medios selectivos contienen antibióticos para evitar el crecimiento excesivo de las bacterias y los hongos contaminantes. Existen tres formulaciones generales que pueden emplearse para ambos medios no selectivos y selectivos.

1. *Medios de agar semisintético:* estos medios (por ejemplo, Middlebrook 7H10 y 7H11) contienen sales definidas, vitaminas, cofactores, ácido oleico, albúmina, catalasa, glicerol, dextrosa y verde malaquita; el medio 7H11 contiene también hidrolizado de caseína. La albúmina neutraliza los efectos tóxicos e inhibidores de los ácidos grasos en la muestra o en el medio. Los inóculos grandes producen crecimiento sobre estos medios en varias semanas. Puesto que se requieren inóculos grandes, estos medios a veces son menos sensibles que otros para el aislamiento primario de micobacterias. Los medios de agar semisintético se usan para observar morfología de colonias, para pruebas de sensibilidad y con antibióticos añadidos como medios selectivos.
2. *Medios de huevo inspissado:* estos medios (por ejemplo, Löwenstein-Jensen, Stonebrink, Ogawa) contienen sales definidas, glicerol y sustancias orgánicas complejas (o sea, huevo fresco o yema de huevo, harina de papa y otros ingredientes en combinaciones variadas). Se incluye verde de malaquita para inhibir otras bacterias. Inóculos pequeños procedentes de muestras de pacientes pueden crecer sobre estos medios en 3 a 6 semanas. Estos medios con antibióticos agregados se usan como medios selectivos.
3. *Medios de caldo:* los medios en caldo (por ejemplo, Middlebrook 7H9, 7H12 y Dubos) apoyan la proliferación de inóculos pequeños. Ordinariamente, las micobacterias crecen en grumos o masas debido al carácter hidrófobo de la superficie celular. Si se agrega Tween (ésteres hidrosolubles de ácidos grasos), la superficie se humedece y, por tanto, permiten el crecimiento disperso en el medio líquido. Con frecuencia el crecimiento es más rápido que en medios complejos. El medio 7H12 con antibióticos, complementos y ácido ^{14}C -palmítico añadidos, es la base del sistema de cultivo BACTEC para micobacterias. Durante el crecimiento, las micobacterias utilizan el ácido ^{14}C -palmítico y liberan CO_2^{14} , que se detecta por el aparato. Los cultivos positivos se pueden detectar con este sistema en un promedio de casi 2 semanas.

Características del crecimiento. Las micobacterias son aerobias estrictas y obtienen energía de la oxidación de muchos compuestos simples de carbono. El aumento de la tensión de CO_2 estimula el crecimiento. Sus actividades bioquímicas no son características, y su velocidad de crecimiento es mucho más lenta que la de la mayor parte de las bacterias. El tiempo de duplicación del bacilo tuberculoso es de casi 18 horas. Las formas saprófitas tienden a crecer más rápidamente, proliferan bien entre 22 a 33 °C, producen más pigmento y son menos acidorresistentes que las formas patógenas.

Reacción a los agentes físicos y químicos. Las micobacterias tienden a ser más resistentes a los agentes químicos en comparación con otras bacterias, debido a la naturaleza hidrófoba de la superficie celular y a su crecimiento en grumos. Los colorantes (por ejemplo, verde malaquita) o agentes antibacterianos (como la penicilina) que son bacteriostáticos para otras bacterias, pueden añadirse a los medios de cultivo sin que se inhiba el crecimiento de *M. tuberculosis*. Los ácidos y álcalis permiten la supervivencia de algunos bacilos tuberculosos expuestos y se pueden utilizar para ayudar a eliminar microorganismos contaminantes y para "concentrar" las muestras clínicas. *M. tuberculosis* es resistente a la desecación y sobrevive por períodos prolongados en el esputo seco.

Variaciones. Pueden ocurrir variaciones en el aspecto de las colonias, la pigmentación, la virulencia, la temperatura óptima de crecimiento y en muchas otras características celulares o del crecimiento.

Patogenicidad de las micobacterias. Existen diferencias muy marcadas respecto a la capacidad de diversas micobacterias para producir lesiones en varias especies de hospederos. Los humanos y los cobayos son muy susceptibles a la infección por *M. tuberculosis*,

mientras que las aves y el ganado bovino son resistentes. *M. tuberculosis* y *Mycobacterium bovis* son igualmente patógenos para el hombre. La vía de infección (respiratoria en comparación con intestinal) determina el patrón de las lesiones. En los países desarrollados, *M. bovis* se ha convertido en una especie poco común. Algunas micobacterias "atípicas" (por ejemplo, *Mycobacterium kansasii*) producen una enfermedad humana indistinguible de la TB; otras (por ejemplo, *Mycobacterium fortuitum*) sólo causan lesiones superficiales o actúan como oportunistas.

CONSTITUYENTES DEL BACILO TUBERCULOSO

Los constituyentes que se mencionan a continuación se encuentran, principalmente, en la pared de la célula. La pared de las células micobacterianas puede inducir hipersensibilidad retardada y cierta resistencia a la infección, así como sustituir las células micobacterianas íntegras en el adyuvante de Freund. El contenido de las células micobacterianas induce reacciones de hipersensibilidad retardada sólo en los animales previamente sensibilizados.

Lípidos

Las micobacterias son ricas en lípidos. Estos incluyen ácidos micólicos (ácidos grasos de cadena larga, C78 a C90), ceras y fosfátidos. En la célula, los lípidos están unidos en su mayor parte a proteínas y polisacáridos. El dipéptido muramil (procedente de peptidoglucanos) forma complejos con el ácido micólico y puede generar la formación de granulomas; los fosfolípidos inducen necrosis caseosa. En cierto grado los lípidos son causantes de la resistencia a ácidos y alcohol. Su eliminación con ácido caliente destruye esta propiedad, la cual depende de la integridad de la pared celular y de la presencia de ciertos lípidos. Dicha resistencia también se pierde después de la sonicación de las células micobacterianas. El análisis de los lípidos utilizando diversas técnicas cromatográficas, revela patrones que ayudan a clasificar las diferentes especies.

Las cepas virulentas de *M. tuberculosis* forman "cordones serpentinados" microscópicos en los cuales los bacilos acidorresistentes se disponen en cadenas paralelas. La formación de cordones se relaciona con la virulencia. Un "factor formador de cordones" inhibe la migración de los leucocitos, es causa de granulomas crónicos y puede actuar como "adyuvante" inmunológico.

Proteínas

Cada tipo de micobacteria contiene varias proteínas que inducen la reacción de la tuberculina. La proteína, unida a una fracción cética, puede, mediante inyección, inducir sensibilidad a la tuberculina y también la formación de varios anticuerpos.

Polisacáridos

Las micobacterias contienen varios polisacáridos. Su función en la patogenia de la enfermedad es incierta; pueden inducir hipersensibilidad del tipo inmediato y servir como antígenos en reacciones con sueros de personas infectadas.

PATOGENIA

Se inhalan micobacterias en gotas de secreción respiratoria de 1 a 5 μm de diámetro, y llegan a los alveolos. La enfermedad es producida por el establecimiento y la proliferación de microorganismos virulentos y las interacciones con el hospedero. Los bacilos avirulentos inyectados (por ejemplo, BCG), sólo sobreviven meses o años en el hospedero normal. La resistencia y la hipersensibilidad de este influyen mucho en el desarrollo de la enfermedad.

PATOLOGÍA

La producción y el desarrollo de las lesiones y su cicatrización o evolución están determinados, principalmente, por: el número de micobacterias en el inóculo y su multiplicación subsiguiente, y la resistencia y la hipersensibilidad del hospedero.

Se producen dos lesiones principales:

1. *Tipo exudativo*: esta lesión es una reacción inflamatoria aguda con líquido de edema, leucocitos polimorfonucleares y, después, monocitos que rodean a *M. tuberculosis*; este tipo se observa, principalmente, en el tejido pulmonar, donde asemeja a una neumonía bacteriana. Puede cicatrizar por resolución, de manera que todo el exudado se absorbe; puede dar lugar a una necrosis masiva del tejido; o puede evolucionar hacia el segundo tipo de lesión (productiva). Durante la fase exudativa, la prueba de tuberculina se vuelve positiva.
2. *Tipo productivo*: cuando está completamente desarrollada la lesión, que es un granuloma crónico, consta de tres zonas: una zona central de células gigantes multinucleares, grandes, que contienen *M. tuberculosis*; una zona media de células epitelioides pálidas, a menudo orientadas radialmente; y una zona periférica de fibroblastos, linfocitos y monocitos. Después se desarrolla tejido fibroso periférico y la zona central sufre necrosis caseosa. Esta lesión se denomina tubérculo. Un tubérculo caseoso puede romperse en el interior de los bronquios, vaciar allí contenido y formar la cavidad. Subsecuentemente puede cicatrizar por fibrosis o calcificación.

Diseminación del microorganismo en el hospedero

Mycobacterium tuberculosis se disemina en el hospedero por extensión directa, a través de los conductos linfáticos y la corriente sanguínea, y por los bronquios y el aparato gastrointestinal.

En la primoinfección, *M. tuberculosis* siempre se disemina desde el sitio inicial a los ganglios linfáticos regionales a través de la vía linfática. Los bacilos pueden propagarse más lejos y alcanzar la corriente sanguínea; esta, por su parte, distribuye los bacilos a todos los órganos (distribución miliar). El flujo sanguíneo puede ser invadido, cuando una vena es erosionada por un tubérculo caseoso o ganglio linfático. Si la lesión caseosa descarga su contenido en un bronquio, dicho material es aspirado y distribuido a otras regiones de los pulmones, o puede deglutirse y pasar al estómago y a los intestinos.

Localización intracelular del crecimiento

Una vez que las micobacterias se establecen en los tejidos, residen, principalmente, en el interior de los monocitos, células reticuloendoteliales y células gigantes. La localización intracelular es uno de los factores que dificulta la quimioterapia y favorece la persistencia del microbio. Dentro de las células de los animales inmunes, la multiplicación de *M. tuberculosis* está considerablemente inhibida.

INFECCIÓN PRIMARIA Y TIPOS DE REACTIVACIÓN TUBERCULOSA

Cuando un hospedero tiene su primer contacto con *M. tuberculosis*, se observa, generalmente, las siguientes características:

1. Desarrollo de una lesión exudativa aguda que rápidamente se propaga a los vasos y ganglios linfáticos regionales. El "complejo de Ghon" es la lesión hística primaria (habitualmente en el pulmón) junto con los ganglios linfáticos afectados. La lesión exudativa en el tejido, a menudo cura rápidamente.

2. El ganglio linfático sufre caseificación masiva, la cual, generalmente, se calcifica.
3. La prueba de tuberculina se vuelve positiva.

Esta primoinfección ocurría más a menudo durante la niñez, pero en la actualidad se observa con frecuencia en adultos que han permanecido libres de la infección y, por tanto, son tuberculinonegativos al principio de su vida. En las primoinfecciones, la afección puede afectar cualquier parte del pulmón, pero es más frecuente en la base.

La infección del tipo reactivación es causada, habitualmente, por *M. tuberculosis* que sobreviven en la lesión primaria. La reactivación de la TB se caracteriza por lesiones crónicas en el tejido, formación de tubérculos, caseificación y fibrosis. Los ganglios linfáticos regionales están sólo afectados de forma ligera y no se caseifican. La reactivación casi siempre empieza en el vértice del pulmón, donde la tensión de oxígeno (PO₂) es mayor.

El contraste entre la primoinfección y la reinfección se demuestra experimentalmente mediante el "fenómeno de Koch". Cuando un cobayo es inoculado de manera subcutánea con *M. tuberculosis* virulento, la herida de inoculación sana rápidamente, pero a las 2 semanas se forma un nódulo en el sitio de inyección; este nódulo se ulcera, y la úlcera no cura. Los ganglios linfáticos regionales desarrollan tubérculos y se caseifican en forma masiva. Cuando el mismo animal es inyectado más tarde con *M. tuberculosis* en otra parte del cuerpo, la sucesión de hechos es muy diferente: hay una rápida necrosis de la piel y los tejidos en el sitio de la inoculación, pero la úlcera sana con rapidez. Los ganglios linfáticos regionales no están infectados en lo absoluto, o solamente lo están después de cierto tiempo.

Estas diferencias entre la primoinfección y la reinfección o reactivación se atribuyen a: la resistencia y la hipersensibilidad, inducidas ambas por la primoinfección del hospedero con *M. tuberculosis*. No está claro hasta qué punto cada uno de estos componentes participa en la respuesta modificada de la TB de reactivación.

INMUNIDAD E HIPERSENSIBILIDAD

A menos que el hospedero muera durante la primoinfección con *M. tuberculosis*, se adquiere una cierta resistencia (véase fenómeno de Koch, descrito anteriormente), y hay mayor capacidad para localizar los bacilos tuberculosos, retardar su multiplicación, limitar su propagación y reducir la diseminación linfática. Esta capacidad puede atribuirse al desarrollo de inmunidad celular durante la infección inicial, con habilidad manifiesta de los fagocitos mononucleares para limitar la multiplicación de los microorganismos ingeridos e, incluso, para destruirlos.

Los anticuerpos se forman contra varios constituyentes celulares de *M. tuberculosis*. La presencia de anticuerpos puede determinarse por medio de muchas pruebas serológicas diferentes. Ninguna de estas reacciones serológicas representa interrelación inequívoca alguna con el estado inmunitario del hospedero, pero en muchos pacientes con TB pulmonar activa se presentan títulos aumentados de anticuerpos IgG a PPD, detectables con la prueba EIA o reacciones de precipitina con polisacáridos.

Durante la infección primaria, el hospedero también adquiere hipersensibilidad a *M. tuberculosis*. Esto se hace evidente por el desarrollo de una reacción positiva a la tuberculina. La sensibilidad a la tuberculina puede ser inducida por *M. tuberculosis* íntegro o mediante tuberculoproteínas en combinación con la cera D soluble en cloroformo de *M. tuberculosis*, pero nunca por la tuberculoproteína sola. La hipersensibilidad y la resistencia parecen ser dos aspectos distintos de reacciones interrelacionadas mediadas por células.

Prueba de tuberculina

Material. La tuberculina vieja (OT) es un filtrado concentrado de caldo en el cual *M. tuberculosis* ha crecido durante 6 semanas. Además de las tuberculoproteínas reactivas, este material contiene una variedad de otros componentes de *M. tuberculosis* y del medio de cultivo. Se obtiene un derivado proteínico purificado (PPD) por fraccionamiento químico de tuberculina vieja. El PPD está estandarizado en términos de reactividad biológica como "unidades de tuberculina" (UT). Por acuerdo internacional, la UT se define como la activi-

dad contenida en un peso especificado del lote No. 49608 del PPD de Seibert, en un amortiguador determinado. Este es el PPD-S, el estándar de tuberculina contra el cual debe establecerse la potencia de todos los productos por análisis biológico, o sea, por la magnitud de la reacción en los humanos. La tuberculina de primera potencia tiene 1 UT; la de potencia intermedia tiene 5 UT y la de segunda potencia tiene 250 UT. La bioequivalencia de los productos de PPD no está basada en el peso del material, sino en la actividad comparativa.

Dosis de tuberculina. Una gran cantidad de tuberculina inyectada a un hospedero hipersensible puede dar lugar a reacciones locales graves y a una exacerbación de la inflamación y la necrosis en el foco de la infección (reacciones focales). Por esta razón, la prueba de la tuberculina en las encuestas emplea 5 UT; en las personas con posible hipersensibilidad extrema, la prueba cutánea se inicia con 1 UT. Se administra un material más concentrado (250 UT) sólo si la reacción con 5 UT es negativa. La cantidad inyectada por vía intradérmica es habitualmente de 0,1 mL, debe estabilizarse con polisorbato-80 para evitar la absorción al vidrio de la ampolla.

Reacciones a la tuberculina. Un individuo que no ha tenido contacto con micobacterias no reacciona al PPD-S. Una persona que ha tenido una primoinfección con *M. tuberculosis* reacciona desarrollando en 24 a 48 horas induración, edema, eritema, y en las reacciones fuertemente positivas, incluso necrosis central. La prueba cutánea se debe leer a las 48 a 72 horas. La reacción se considera positiva si la inyección de 5 UT es seguida por una induración de 10 mm o más de diámetro. Las pruebas positivas tienden a persistir por varios días. Las reacciones débiles pueden desaparecer más rápidamente.

La prueba de la tuberculina se hace positiva en 4 a 6 semanas después de la infección (o inyección de bacilos avirulentos). Puede ser negativa en presencia de infección tuberculosa cuando se desarrolla una "anergia" debida a una tuberculosis masiva, sarampión, enfermedad de Hodgkin, sarcoidosis, SIDA o inmunodeficiencia. La reacción positiva a la tuberculina puede regresar a la negatividad, ocasionalmente, después del tratamiento con isoniacida en un individuo que ha adquirido la positividad poco tiempo antes de iniciado el tratamiento. Después de la vacunación con BCG, la prueba positiva se sostiene durante 3 a 7 años. Sólo la eliminación de *M. tuberculosis* viables del organismo, da por resultado la regresión a la negatividad de la reacción tuberculínica. Sin embargo, las personas que durante años han sido PPD positivas y están saludables, pueden, en un momento dado, dar reacción negativa. Cuando tales personas se vuelven a examinar 2 semanas más tarde, su prueba cutánea al PPD, "reforzada" por la inyección reciente del antígeno, dará nuevamente una prueba de induración del tamaño adecuado como para ser considerada positiva. La reactividad a la tuberculina puede ser transmitida por las células (no por el suero) de una persona tuberculino positiva a otra tuberculino negativa.

Interpretación de la prueba de tuberculina. Una prueba positiva a la tuberculina indica que un individuo ha sido infectado en el pasado y continúa como portador de micobacterias viables en algunos tejidos. Esto no implica la presencia de enfermedad activa o de inmunidad a la enfermedad. Las personas tuberculino positivas tienen el peligro de desarrollar la enfermedad por reactivación de la infección primaria, en tanto que las negativas que nunca han sido infectadas no están sujetas a ese riesgo, aunque pueden infectarse por una fuente externa.

También se han elaborado preparaciones de PPD a partir de otras micobacterias. Muestran cierta especificidad de especie en concentraciones bajas y reacciones cruzadas intensas en concentraciones mayores (véase más adelante "Otras micobacterias").

DATOS CLÍNICOS

Como *M. tuberculosis* puede afectar cualquier órgano, las manifestaciones clínicas son variables. Pueden ser signos de tuberculosis: fatiga, debilidad, pérdida de peso y fiebre. Las lesiones pulmonares que ocasionan tos crónica y esputo sanguinolento, generalmente están relacionadas con lesiones muy avanzadas. Puede presentarse meningitis o alteraciones del aparato urinario en ausencia de otros signos de TB. La diseminación por la circulación sanguínea implica una TB miliar con lesiones en muchos órganos y una tasa de mortalidad elevada.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO

Una prueba de tuberculina positiva no demuestra la presencia de enfermedad activa causada por *M. tuberculosis*. El aislamiento de estos bacilos proporciona tal prueba.

Medidas de bioseguridad en el trabajo bacteriológico de la tuberculosis

En el diagnóstico bacteriológico de la TB existe el riesgo de infección del personal por el manejo de muestras de humanos o de animales enfermos. La vía de infección más importante es la respiratoria, por lo tanto, hay que impedir la inhalación de aerosoles producidos durante la manipulación de líquidos contaminados que llegan fácilmente hasta los alveolos. Las medidas de bioseguridad en el trabajo de bacteriología para el diagnóstico de la TB, son un conjunto de prácticas que deben ser realizadas rutinariamente por el personal. La principal medida de bioseguridad es la realización metódica de cada técnica, pues ninguna medida, ni siquiera un excelente equipo, puede sustituir el orden y cuidado con que se trabaje. Las medidas de bioseguridad se aplican tanto en los laboratorios que hacen sólo baciloscopia como en los de mayor complejidad. Tienen relación con el personal, con la probable contaminación del ambiente en que se trabaja, con el equipo de seguridad que debe ser utilizado, con la actitud del personal al producirse un accidente y con las acciones a realizar al terminar el trabajo.

El personal que trabaja con micobacterias debe someterse a exámenes físicos regulares, por lo menos, una vez al año. La prueba cutánea de tuberculina debe ser de rutina en personas tuberculinonegativas, con radiografía torácica de todos aquellos con prueba cutánea positiva.

Las manipulaciones que pueden ocasionar contagio en el laboratorio están relacionadas con la producción de aerosoles. Las de mayor riesgo son: destapar bruscamente los envases que contienen las muestras y preparar el extendido.

Muestras. Las muestras consisten en esputo fresco, lavados gástricos, orina, líquido pleural, líquido cefalorraquídeo, líquido articular, material de biopsia, sangre u otro material sospechoso.

Microscopia: detección de bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR). El examen bacteriológico del esputo constituye la técnica de elección para la búsqueda de casos de TB pulmonar en los modernos programas para el control de esta enfermedad. El examen directo o baciloscopia, que permite la determinación de BAAR, tiene un valor prioritario en el diagnóstico de esta entidad; la técnica detecta la fuente principal de infección (los mayores excretores de bacilos) para proceder a su inmediato tratamiento y control. Además, la baciloscopia es eficaz en el control bacteriológico del tratamiento quimioterapéutico por ser rápida, simple, específica y tener un bajo costo, permitiendo una amplia cobertura en el diagnóstico. Sin embargo, su sensibilidad deja que desear, ya que como regla deben existir entre 5 000 a 10 000 bacilos por mililitro de expectoración para obtener un 50 % de posibilidades de ser detectados al microscopio BAAR.

Se examina el esputo, exudados u otro material mediante la tinción de Ziehl-Neelsen. Generalmente no se recomiendan tinciones de lavados gástricos y orina, debido a que pueden estar presentes micobacterias saprófitas y producir una tinción positiva. La coloración de Kinyoun es una variante de la tinción de Ziehl-Neelsen que no utiliza calor. La microscopia con fluorescencia, con tinción de auramina-rhodamina, es más sensible que la tinción acidorresistente; es necesario practicar una tinción acidorresistente si la microscopia fluorescente es positiva. Si se encuentran microorganismos acidorresistentes en una muestra apropiada, esta es una evidencia presuntiva de infección micobacteriana.

En Cuba, se realiza la lectura de la baciloscopia de acuerdo con la observación microscópica de 300 campos en cuatro líneas de la lámina (dos horizontales y dos verticales); se establece la codificación del 0 al 9 en dependencia del conteo de bacilos en todo el recorrido. La mayoría de los países realizan la lectura acorde con la observación de 100 campos y establecen la codificación en cruces.

Homogenización y descontaminación de muestras

En las muestras provenientes de sitios en donde las micobacterias coexisten con otros microorganismos de la flora normal, es indispensable el empleo de descontaminantes que permiten la destrucción de los gérmenes asociados, conservando la viabilidad del bacilo. Esto también puede ser necesario en muestras que, aunque provengan de un sitio normalmente estéril, se hayan contaminado durante su obtención o transporte.

La muestra debe homogenizarse, especialmente el esputo, a fin de lograr su licuefacción y liberar al bacilo del moco, material celular y tejidos que puedan acompañarlo.

Existen diferentes métodos de pretratamiento y de acuerdo con la procedencia de la muestra se seleccionará el adecuado. Entre los más utilizados se encuentra el método de Petroff, usado en la mayoría de los laboratorios en Cuba para la descontaminación del esputo; como descontaminante y homogenizante emplea una solución de hidróxido de sodio al 4 % (letal para muchas otras bacterias y hongos). Otro descrito y utilizado con bastante frecuencia es el de Tacquet y Tison, donde al igual que en el anterior, usa hidróxido de sodio y se adiciona en este método laurilsulfato de sodio. El método de Löwenstein (ácido sulfúrico) se recomienda en muestras que sólo requieren descontaminación (por ejemplo, orina). En cualquiera de los métodos utilizados, es necesario realizar, con posterioridad a la homogenización y descontaminación, la neutralización con amortiguador y concentración por centrifugación.

Cultivo, identificación y pruebas de sensibilidad. El cultivo es una técnica que tiene mayor sensibilidad, ya que basta que existan más de 10 bacilos/mL para que sea positivo; su implementación puede aumentar el rendimiento del diagnóstico bacteriológico hasta en un 20 % o más. Asimismo, el cultivo adquiere una gran relevancia en la TB extrapulmonar. Sólo en el cultivo y en la identificación del agente etiológico pueden diferenciarse otras manifestaciones patológicas no tuberculosas, causadas por micobacterias.

Las muestras procesadas de sitios no estériles y las muestras centrifugadas de sitios estériles, pueden cultivarse directamente en medios selectivos y no selectivos (véase antes). El cultivo en caldo selectivo es, con frecuencia, el método más sensible y proporciona resultados muy rápidos. Un medio de agar selectivo (por ejemplo, Löwenstein-Jensen o Middlebrook 7H10/7H11 en placa doble, con antibióticos) debe inocularse en forma paralela con los cultivos en medio de caldo. La incubación es a 37 °C en CO₂ al 5 a 10 % durante 8 semanas. Si los cultivos son negativos en presencia de una tinción acidorresistente positiva, o se sospechan micobacterias atípicas de crecimiento lento, entonces un conjunto de medios inoculados debe incubarse a una temperatura más baja (es decir, 24 a 33 °C), y ambos grupos incubarse durante 12 semanas.

Se han hecho muchos intentos para mejorar los métodos de cultivo de *M. tuberculosis*, de modo que se pueda disponer de sus resultados en plazos más breves. Las técnicas más útiles parecen ser las radiométricas (BACTEC 460 TB), que utilizan un medio líquido Middlebrook 7H12 con ácido palmítico marcado con C¹⁴, y permiten hacer el diagnóstico en pocos días; además, tienen una mayor sensibilidad que los métodos bacteriológicos tradicionales.

La sangre para cultivo de complejo de micobacterias (habitualmente *M. avium-intracellulare*) debe anticoagularse y procesarse por uno de los tres métodos: sistema de centrifugación con lisis disponible comercialmente; inoculación en caldo de cultivo disponible comercialmente, diseñado específicamente para hemocultivos; centrifugación de la sangre e inoculación de la capa eritrocítica, con lisis de desoxicolato de las células o sin ella, en caldo de cultivo. Pueden usarse medios sólidos en forma paralela.

Es importante, desde el punto de vista médico, caracterizar y separar a *M. tuberculosis* de todas las demás especies de micobacterias. Las micobacterias aisladas deben identificarse hasta su especie. Los métodos convencionales con frecuencia requieren de 6 a 8 semanas para su identificación; incluyen observación de la velocidad de crecimiento, morfología de la colonia, pigmentación y perfiles bioquímicos. La velocidad de crecimiento separa las de crecimiento rápido (crecimiento menor o igual a 7 días) de otras micobacterias (Cuadro 36.2). Las fotocromógenas producen pigmento en la luz, pero no en la oscuridad; las escotocromógenas desarrollan pigmento cuando crecen en la oscuridad; y las no fotocromógenas desarrollan varios grados de pigmentación no relacionada con exposición

con la luz (clasificación de Runyon). Las especies individuales o los complejos se definen por características bioquímicas adicionales (por ejemplo, prueba positiva a la niacina como el *M. tuberculosis*, reducción de nitrato, producción de ureasa o catalasa, prueba de arilsulfatasa, y muchas otras). Los métodos convencionales para clasificar micobacterias están volviéndose rápidamente de interés histórico, ya que los métodos de sonda molecular son más rápidos y fáciles.

Cuadro 36.2. Clasificación de las micobacterias según Runyon

Clasificación	Especie
Complejo TB	<i>M. tuberculosis</i>
	<i>M. africanum</i>
	<i>M. bovis</i>
Grupo I Fotocromógenas	<i>M. asiaticum</i>
	<i>M. kansasii</i>
	<i>M. marinum</i>
	<i>M. simiae</i>
Grupo II Escotocromógenas	<i>M. flavescens</i>
	<i>M. gordonae</i>
	<i>M. scrofulaceum</i>
	<i>M. szulgai</i>
Grupo III No cromógenas	Complejo <i>M. avium</i>
	<i>M. celatum</i>
	<i>M. haemophilum</i>
	<i>M. gastri</i>
	<i>M. genavense</i>
	<i>M. malmoense</i>
	<i>M. nonchromogenicum</i>
	<i>M. chimoidei</i>
	<i>M. terrae</i>
	<i>M. triviale</i>
	<i>M. ulcerans</i>
<i>M. xenopi</i>	
Grupo IV De crecimiento rápido	<i>M. abscessus</i>
	Grupo <i>M. fortuitum</i>
	Grupo <i>M. chelonae</i>
	<i>M. phlei</i>
	<i>M. smegmatis</i>
<i>M. vaccae</i>	

Las sondas moleculares proporcionan un método rápido, sensible y específico para identificar micobacterias. Las sondas se pueden utilizar sobre el crecimiento de micobacterias en medio sólido o en cultivo en caldo. Las sondas ADN específicas para secuencias del rARN de los microorganismos sometidos a prueba, se emplean en el procedimiento de hibridación. Existen aproximadamente 10 000 copias del rARN por célula de micobacteria, lo cual proporciona un sistema natural de amplificación al tiempo que incrementa su detección. Los híbridos de doble cadena se separan de las sondas no hibridadas de cadena única. Las sondas de ADN están enlazadas con sustancias químicas que son activadas en los híbridos y detectadas mediante quimioluminiscencia. Las sondas para el complejo *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis* y *M. bovis*), complejo *M. avium-intracellulare* (*M. avium*, *M. intracellulare*) y micobacterias estrechamente relacionadas, (*M. kansasii* y *M. gordonae*) están en uso e identifican en forma eficaz la mayor parte de los aislados micobacterianos en laboratorios clínicos. El uso de estas sondas ha acortado el tiempo de identificación de micobacterias clínicamente importantes desde varias semanas hasta un día.

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) ha sido aplicada a la identificación de muchas especies de micobacterias. El método se basa en el desarrollo de perfiles de ácidos micólicos, que varían de una especie a otra; esta técnica se utiliza, generalmente, en laboratorios de referencia.

Con la aparición de cepas multidrogoresistentes (MDR), el empleo de las pruebas de susceptibilidad a los agentes antimicobacterianos ha recobrado actualidad y vigencia. Estas pruebas cumplen dos grandes propósitos: primero, desde el punto de vista clínico individual, sirven para seleccionar nuevos tratamientos en pacientes sometidos a farmacoterapia múltiple que han sufrido fracaso terapéutico o resistencia a un tratamiento anterior; segundo, desde el punto de vista epidemiológico, son una herramienta de vigilancia que permite estimar periódicamente la frecuencia de resistencia en muestras de individuos afectados que nunca han sido tratados y en aquellos con tratamiento previo.

Los métodos más usados son: el de las concentraciones absolutas, el de la relación de resistencia y el de las proporciones. Este último es el más conocido y difundido en América Latina, con los tres se utiliza el medio Löwenstein-Jensen; estos presentan el inconveniente de la demora en la obtención de resultados (6 semanas).

En laboratorios con capacidad tecnológica, se aplican métodos rápidos para la detección de resistencia en micobacterias; entre los que se encuentra el método radiométrico (véase anteriormente), sistemas de luciferasas, pruebas colorimétricas y técnicas moleculares para la detección de mutaciones que confieren resistencia en cepas de *M. tuberculosis* de casos clínicos.

Nuevas tecnologías. La reacción en cadena de la polimerasa (RCP) es sumamente prometedora para lograr la detección rápida y directa de *M. tuberculosis* en muestras clínicas. La sensibilidad total es de 55 a 90 %, con una especificidad cercana al 99 %. La prueba tiene una mayor sensibilidad cuando se aplica en muestras que fueron positivas al examen directo (baciloscopia); la prueba de la RCP está aprobada para este uso, aunque todavía este método se encuentra bajo intenso desarrollo para lograr su aplicación generalizada, ya que presenta como inconveniente principal, problemas por la contaminación ambiental con fragmentos libres del ADN micobacteriano, que dan lugar a reacciones falsas positivas.

Se han usado ensayos de inmunoenálisis de enzimas (EIA) para detectar antígenos micobacterianos, pero la sensibilidad y la especificidad son menores que con otros métodos. Actualmente, con el EIA es posible hacer el diagnóstico serológico, para detectar anticuerpos contra antígenos de *M. tuberculosis* con una sensibilidad cercana al 90 % y una especificidad próxima al 100 % en enfermos bacilíferos, con una fuerte carga antigénica. La sensibilidad es menor en la TB paucibacilar y extrapulmonar, que es justamente donde las técnicas bacteriológicas también muestran sus mayores limitaciones. Ninguno de estos métodos es adecuado para emplearse en el diagnóstico sistemático.

La utilización de marcadores genéticos para la diferenciación de cepas de *M. tuberculosis* dentro de la misma especie, es de gran ayuda para los estudios epidemiológicos de la TB. En la actualidad, el método más usado se basa en la hibridación de los ácidos nucleicos (Southern Blot) y consiste en el análisis del polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP) que se obtienen tras la hibridación, empleando la secuencia de inserción IS6110 como sonda. Este método ha sido estandarizado internacionalmente, y se ha convertido en una herramienta valiosa en estudios de transmisión de TB en áreas urbanas; ha permitido también realizar estudios sobre brotes de TB en lugares cerrados (centros estudiantiles, prisiones, asistencia médica); ha aportado conocimientos sobre la influencia del VIH en la transmisión de la enfermedad y en el seguimiento de la eficacia del tratamiento.

TRATAMIENTO

El tratamiento efectivo de la TB se basa en la aplicación sistemática de la terapia combinada directamente supervisada y en el seguimiento de los resultados de este tratamiento.

La OMS ha recomendado esta estrategia de tratamiento directamente supervisado y acortado (DOTS), para la cura de la TB basado en las altas tasas de curación que se sitúan en el 95 %, su eficacia en la prevención de nuevas infecciones, prevención de la multiresistencia y su alta efectividad en las intervenciones de salud.

En Cuba, los fármacos antituberculosos usados más ampliamente son: isoniacida, rifampicina, etambutol, estreptomina y pirazinamida. Los fármacos antituberculosos de segunda línea (ethionamida, ofloxacina, cicloserina, kanamicina y ciprofloxacina), son administrados a pacientes que mantienen bacteriología positiva, después de cumplir un esquema

de retratamiento controlado y que presentan multidrogorresistencia (resistencia a la isoniacida y a la rifampicina).

Entre 1×10^6 y 1×10^8 bacilos tuberculosos presentan mutaciones espontáneas resistentes a los fármacos antituberculosos de primera línea. Cuando se emplea sólo un fármaco, el bacilo tuberculoso resistente emerge con rapidez y se multiplica. Por tanto, el régimen de tratamiento emplea fármacos en combinación para producir tasas de curación por encima del 95 %.

En nuestro país se recomienda la terapéutica inicial con cuatro fármacos para la primera fase (60 dosis): isoniacida, rifampicina, pirazinamida y estreptomycin; y dos para la segunda (intermitente dos veces por semana, 40 dosis): isoniacida, rifampicina. En los pacientes con SIDA, se utilizará el mismo esquema de tratamiento sustituyendo la estreptomycin por el etambutol. El paciente con esputo positivo se vuelve no infectante en 2 a 3 semanas después de iniciarse la quimioterapia eficaz.

Ya se conocen los mecanismos que explican el fenómeno de la resistencia para muchos fármacos utilizados en el tratamiento de la TB. La resistencia a la isoniacida se vincula con delecciones o mutaciones en el gen catalasa-peroxidasa katG; estos, aislados, se convierten en catalasa negativa o disminuyen su actividad de catalasa. La resistencia a la isoniacida también se ha vinculado con alteraciones en el gen inhA, el cual codifica una enzima que funciona en la síntesis de ácido micólico. La resistencia a la estreptomycin está vinculada con mutaciones en los genes rpsL y rrs que codifican la proteína ribosómica S12 y el rARN 16 S, respectivamente. La resistencia a la rifampicina se vincula con alteraciones en la subunidad b de la ARN polimerasa, el gen rpoB. Las mutaciones en el gen de la ADN girasa, el gyrA, se ha vinculado con la resistencia a la fluoroquinolona.

Mycobacterium tuberculosis resistente a múltiples fármacos, es un problema importante, y de orden creciente en el tratamiento y control de la TB. Estas cepas están presentes en ciertas áreas geográficas (por ejemplo, ciudad de Nueva York) y en ciertas poblaciones (hospitales y prisiones). Se han producido muchos brotes de TB con cepas resistentes a múltiples fármacos. Son particularmente importantes en personas con infecciones por VIH. Las personas infectadas con microorganismos resistentes a múltiples fármacos, o que están en alto riesgo de estas infecciones, incluyendo la exposición a otra persona con tal infección, deben tratarse de acuerdo con los resultados de la prueba de sensibilidad para la cepa infectante. Si no se dispone de resultados de sensibilidad, los fármacos deben seleccionarse acordes con el patrón conocido de susceptibilidad en la comunidad y modificarse cuando se dispone de los resultados de la prueba de sensibilidad. La terapéutica debe incluir un mínimo de tres, y es preferible que sean más de tres fármacos, a los cuales los microorganismos hayan demostrado susceptibilidad.

EPIDEMIOLOGÍA

En los últimos años, ha tenido lugar en el mundo un incremento de la TB, que ha vuelto a surgir como problema sanitario de primera magnitud, tanto en los países en vías de desarrollo, como en los desarrollados.

Varios factores, entre los que se destacan los socioeconómicos y el abandono de los programas de control, determinan este fenómeno. Nuevos acontecimientos como el SIDA y la multiresistencia a los medicamentos han agravado esta situación.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que un tercio de la población mundial está infectada por *M. tuberculosis* (1 722 millones de personas) y que anualmente aparecen 10 millones de casos nuevos de TB activa y fallecen 3 millones de personas a consecuencia de esta enfermedad.

Para la región de las Américas, la Oficina Sanitaria Panamericana estimó que 400 000 personas enfermaron de TB en 1996 y más de 60 000 mueren anualmente por esta causa, en edades productivas de la vida.

En el enfrentamiento de esta amenaza y su progresiva extensión regional, motivada por la pobreza, la creciente desigualdad, programas de control inadecuados, el incremento de la población mundial y el impacto de la pandemia del VIH, la OMS decretó en 1993 el estado de emergencia global y exhortó a cada país al control de la TB mediante la aplicación del

conjunto de medidas de eficacia comprobada, enmarcadas en la estrategia DOTS (Sistema de Tratamiento Directamente Observado) de la propia OMS.

El Programa Nacional de Control de la TB se inició en Cuba en el año 1962 y se ha caracterizado por cinco etapas que transitan desde el tratamiento dispensarial con ingreso sanatorial, la implantación del tratamiento ambulatorio controlado en 1971, la adopción en 1982 del esquema acortado multidroga (9 meses) con el uso de la rifampicina en la primera fase, en 1987 el uso de la rifampicina en ambas fases (7 meses); hasta la introducción en 1997 de acciones específicas para reducir la fuente de infección en los contactos de casos de TB pulmonar con baciloscopia positiva.

La evolución de la TB de 1971 a 1991 muestra una tendencia descendente como expresión del resultado de la lucha contra esta enfermedad, el fortalecimiento del Sistema Nacional de Salud (SNS) y las transformaciones socioeconómicas operadas en el país.

De 1992 a 1994, la incidencia se incrementa de una tasa de 5 por cada 100 000 habitantes, alcanzada en el año 1991, a 14,3 por cada 100 000 habitantes en el año 1994, como fenómeno multicausal asociado a las dificultades económicas del país, a reactivaciones endógenas en adultos de la tercera edad y a problemas en la operación del Programa.

Para contrarrestar esta nueva situación epidemiológica, a finales de 1993 se realiza una revisión del Programa, lo que permitió un mayor control en la operación de cada uno de sus componentes. En 1995 se obtienen los primeros resultados: se logra detener el incremento de casos, se inicia la recuperación progresiva del Programa y la declinación en la detección de casos. La tasa registrada en 1997 fue de 12,3 por cada 100 000 habitantes, y en 1998 fue de 11,0.

En nuestro contexto, la asociación de la infección por el virus del VIH y la TB no se ha vinculado con el incremento de esta última en el país; situación similar ocurre con la multirresistencia, no constituyendo hasta el momento un factor a considerar en el incremento de la morbilidad.

La fuente más frecuente de infección es el hombre, que elimina, particularmente por el aparato respiratorio, grandes cantidades de bacilos tuberculosos. Un contacto íntimo (por ejemplo, dentro de la familia) y una exposición masiva (por ejemplo, en el personal médico) hacen que la transmisión sea más probable por núcleos de gotitas.

La susceptibilidad a la TB está en función de dos riesgos: el riesgo de adquirir la infección y el riesgo de enfermedad clínica después que ha ocurrido la infección. Para el individuo tuberculonegativo, el riesgo de adquirir *M. tuberculosis* dependerá de su exposición a fuentes de contagio del mismo, principalmente pacientes con esputo positivo. Este riesgo es proporcional a la tasa de infección activa en la población, aglomeración, desventajas socioeconómicas e ineficacia de la atención médica.

El desarrollo de enfermedad clínica después de la infección puede tener un componente genético, comprobado en animales y sugerido en seres humanos con una mayor incidencia de enfermedad en los que tienen antígeno de histocompatibilidad (HLA-Bw15). Influyen la edad (riesgo alto en la lactancia y en los ancianos), desnutrición, y el estado inmunitario, enfermedades coexistentes (por ejemplo, silicosis, diabetes), así como otros factores individuales de resistencia del hospedero.

La infección se presenta a una edad más temprana en poblaciones urbanas que en rurales. La enfermedad se produce sólo en una proporción reducida de individuos infectados. La incidencia de TB es especialmente alta en personas de la minoría con infecciones por VIH. La infección primaria puede producirse en cualquier persona expuesta a una fuente infecciosa. Los pacientes que han padecido TB pueden infectarse exógenamente por segunda vez. La TB por reactivación endógena es más común entre personas con SIDA y ancianos desnutridos o alcohólicos.

PREVENCIÓN Y CONTROL

1. Deben mejorarse las condiciones sociales, como el hacinamiento, que aumentan el riesgo de adquirir la infección; educación a la población respecto al modo de transmisión y métodos para controlar la enfermedad. Deben proporcionarse facilidades médicas, de laboratorio y radiológicas para el examen de los pacientes, contactos y sospechosos. El tratamiento pronto y eficaz de pacientes con TB activa, y el seguimiento cuidadoso de sus contactos con pruebas de tuberculina, rayos X y tratamiento apropiado, constituyen

- las bases fundamentales de los programas nacionales de control de la TB.
2. La quimioprofilaxis consiste en la administración controlada de isoniacida a personas con alto riesgo de desarrollar TB, una vez que exista la seguridad de ausencia de enfermedad tuberculosa activa. Esta quimioprofilaxis puede ser administrada a personas no infectadas (PPD negativas) para prevenir la infección o a personas infectadas (PPD positivas) para evitar que enfermen.
 3. Resistencia individual del hospedero: factores inespecíficos pueden reducir la resistencia de este, favoreciendo en esa forma la conversión de una infección asintomática a enfermedad. Estos factores incluyen: inanición, gastrectomía, enfermedad crónica debilitante (diabetes, neoplasias, insuficiencia renal) y supresión de la inmunidad celular por fármacos (por ejemplo, corticoesteroides o infección). La infección por VIH constituye un factor de riesgo de orden mayor.
 4. Inmunización: se han empleado bacilos de tuberculosis vivos, avirulentos, particularmente BCG (Bacilo Calmette-Guérin, un microorganismo bovino atenuado), para inducir una cierta cantidad de resistencia en quienes tienen una exposición intensa a la infección. La vacunación con estos microorganismos constituye el sustituto de la infección primaria con bacilos de TB virulentos, sin el peligro inherente de estos últimos. Esta vacuna tiene un valor protector en relación con las formas graves de diseminación de la primoinfección tuberculosa (TB miliar y meningitis tuberculosa), fundamentalmente en los niños menores de 4 años. Sin embargo, el efecto preventivo en el adulto y, por lo tanto, en la transmisión de la enfermedad, es muy limitado. La evidencia estadística indica que después de la vacunación con BCG se presenta un aumento en la resistencia por un período limitado. En Cuba, se vacuna con BCG a todo recién nacido antes del alta del hospital materno.
 5. La erradicación de la TB en ganado bovino, y la pasteurización de la leche, han reducido considerablemente las infecciones por *M. bovis*.

OTRAS MICOBACTERIAS

Las micobacterias distintas del *M. tuberculosis*, *M. bovis* y *M. leprae*, se caracterizan por su ubicuidad en la naturaleza, son comunes en el agua y el suelo, y se asocian a varios animales, así como pueden causar enfermedad en el hombre. En el pasado, estos bacilos acidorresistentes se denominaban micobacterias "atípicas", "anónimas", micobacterias no tuberculosas (MNT) o sin clasificar. Runyon las ha dividido en cuatro grupos (Cuadro 36. 2) de acuerdo con la velocidad de crecimiento a varias temperaturas y la producción de pigmento: grupo I, fotocromógenas; grupo II, escotocromógenas; grupo III, no fotocromógenas y grupo IV, de crecimiento rápido (menor o igual a 7 días).

Los síndromes clínicos asociados con las especies patógenas de micobacterias pueden clasificarse en los siguientes grandes grupos (Cuadro 36.1): enfermedades pulmonares parecidas a la TB (*M. kansasii*, *M. intracellulare*, *M. avium*, *M. fortuitum*, *M. xenopi*); linfadenitis, primordialmente cervical (*M. scrofulaceum*, *M. intracellulare*, *M. avium*); úlceras cutáneas (*M. ulcerans*, *M. marinum*); lesiones o abscesos por inyecciones (*M. fortuitum* y *M. chelonae*). No se ha definido claramente la epidemiología de las enfermedades atribuibles a estos organismos; no hay indicaciones de transmisión de una persona a otra, con excepción de los aislados de lesiones cutáneas y son patógenos oportunistas (Cuadro 36.1). Un solo aislamiento de estos bacilos en muestras de esputo, gástricas o de otra naturaleza no supone un diagnóstico, a menos que vaya acompañado de resultados clínicos compatibles. En la actualidad, se puede identificar algunas especies utilizando sondas de ADN.

Las MNT son, a menudo, resistentes a alguno de los medicamentos habituales utilizados para el tratamiento de la TB. Por tanto, estos pacientes deben ser tratados solamente por especialistas experimentados.

A continuación se describen las especies o complejos que son causa significativa de enfermedad.

COMPLEJO *MYCOBACTERIUM AVIUM*

Al complejo *M. avium-intracellulare* con frecuencia se denomina MAI o MAC (complejo *Mycobacterium avium*). Su crecimiento óptimo tiene lugar a 41 °C y produce colonias lisas, blandas y no pigmentadas. Son ubicuos en el ambiente y se les ha cultivado a partir de agua, suelo, alimentos y animales, incluso aves.

El MAI causa enfermedad con poca asiduidad en humanos inmunocompetentes. Sin embargo, en algunos países, la infección diseminada por MAI es la infección oportunista de origen bacteriano más común en los pacientes con SIDA. El riesgo de desarrollar infección diseminada por MAI en personas con infección por VIH, aumenta considerablemente cuando la cifra de linfocitos CD4-positivos declina a <100 µL. Otros factores como la infección previa por *Pneumocystis carinii*, anemia grave y la interrupción de la terapéutica antirretroviral, pueden aumentar el riesgo.

La exposición ambiental puede conducir a la colonización por MAI en los aparatos respiratorio o gastrointestinal. Hay bacteriemia transitoria seguida por invasión de los tejidos. La bacteriemia persistente y la infiltración extensa de los tejidos resulta en la disfunción de órganos. Cualquiera de estos puede afectarse. En el pulmón son comunes los nódulos, el infiltrado difuso, las cavernas y las lesiones endobronquiales. Otras manifestaciones incluyen: pericarditis, abscesos de tejido blando, lesiones cutáneas, afección de los ganglios linfáticos, infección de hueso y lesiones en el Sistema Nervioso Central.

Los pacientes presentan, con frecuencia, síntomas inespecíficos como fiebre, sudor nocturno, dolor abdominal, diarrea y pérdida de peso.

El diagnóstico se establece mediante el cultivo a partir de muestras de sangre o tejido y su posterior identificación en especie a través de métodos convencionales o utilizando sondas de ADN (véase antes). No hay un método estándar para determinar la susceptibilidad a los fármacos y tampoco existe una buena correlación de las pruebas de susceptibilidad *in vitro* con los resultados clínicos.

Habitualmente el MAI es resistente a los antituberculosos de primera línea. El tratamiento con los nuevos macrólidos, claritromicina o azitromicina, además de etambutol, es la terapéutica inicial preferida. Otros fármacos que pueden ser útiles son: la rifabutina, las fluoroquinolonas y la amikacina. A menudo se emplean múltiples fármacos en combinación. La terapéutica debe continuar durante toda la vida.

MYCOBACTERIUM KANSASII

Es un fotocromógeno que requiere medio complejo para crecer a 37 °C; es típico la dependencia de la exposición a la luz para la formación de caroteno, unida, generalmente, a producción de cristales de caroteno. La tasa de crecimiento es similar a la de *M. tuberculosis* o un poco más rápido; las colonias son característicamente intermedias entre muy rugosas y muy lisas.

Puede producir una enfermedad pulmonar y sistémica indistinguible de la TB, sobre todo en pacientes con respuesta inmunitaria deficiente. Las bacterias susceptibles a la rifampicina con frecuencia se tratan mediante una combinación de rifampicina, etambutol e isoniacida con buena respuesta clínica. La fuente de la infección es incierta y la transmisibilidad es escasa o nula.

MYCOBACTERIUM SIMIAE

Se aisló primeramente en primates no humanos y desde entonces se ha asociado a enfermedad pulmonar humana en Europa, Cuba (*Mycobacterium habana*, Valdivia JA y cols., 1971) y Estados Unidos. El microorganismo es fotocromógeno, de crecimiento lento y las características bioquímicas más importantes para diferenciarlo del *M. tuberculosis* son la prueba de la niacina, que es fuertemente positiva, y la de la catalasa, que aun a 68 °C se conserva; las colonias son lisas, de fácil dispersión en agua y es resistente a las principales drogas antituberculosas.

MYCOBACTERIUM SCROFULACEUM

Este es un escotocromógeno que se encuentra, ocasionalmente, en el agua y como saprófito en adultos con enfermedad pulmonar crónica. Causa linfadenitis cervical crónica en niños y, raras veces, otras enfermedades granulomatosas. La excisión quirúrgica de los ganglios linfáticos cervicales afectados puede ser curativa; y es común la resistencia a los antituberculosos. (*Mycobacterium szulgai* y *Mycobacterium xenopi* son muy parecidos.)

MYCOBACTERIUM MARINUM Y MYCOBACTERIUM ULCERANS

Estos microorganismos se hallan en el agua, crecen mejor a temperatura baja (31 °C), pueden infectar peces y a veces producen lesiones cutáneas superficiales (úlceras de Buruli por *M. ulcerans*, granuloma de piscina por *M. marinum*) en humanos. En ocasiones son eficaces la excisión quirúrgica, las tetraciclinas, la rifampicina y el etambutol.

COMPLEJO MYCOBACTERIUM FORTUITUM-CHELONEI

Estos son saprófitos que se encuentran en el suelo y el agua, y crecen con rapidez (3 a 6 días, grupo IV de Runyon) en el cultivo; no forman pigmentos. Raramente producen enfermedad superficial y sistémica en los humanos. *Mycobacterium fortuitum* a veces contamina las válvulas porcinas empleadas como prótesis en la cirugía cardíaca humana. Los microorganismos son resistentes, con frecuencia, a los fármacos antimicobacterianos, pero pueden responder a amikacina, doxiciclina, cefoxitina, eritromicina o rifampicina.

OTRAS ESPECIES DE MICOBACTERIAS

El alto riesgo para la infección por micobacterias en los pacientes con SIDA ha incrementado la percepción de estas infecciones en general. Las especies antes consideradas como raras, ahora se identifican con mayor frecuencia. *Mycobacterium malmoense* se ha aislado, principalmente, en el norte de Europa; produce una enfermedad similar a la TB pulmonar en los adultos y linfadenitis en los niños. *Mycobacterium haemophilum* y *Mycobacterium genavense* provocan enfermedad en los pacientes con SIDA. La importancia de estas dos especies aún no se entiende por completo.

Micobacterias saprófitas no vinculadas con enfermedad humana son: *Mycobacterium phlei*, se halla comúnmente sobre plantas, en el suelo o en el agua. Lo mismo sucede con *Mycobacterium gordonae*. *Mycobacterium smegmatis* se observa, por lo regular, en la secreción sebácea humana y puede confundirse con microorganismos patógenos acidorresistentes. *Mycobacterium paratuberculosis* produce enteritis crónica en el ganado bovino y puede vincularse con la enfermedad de Crohn (enteritis regional) en los humanos.

MYCOBACTERIUM LEPRAE

El *Mycobacterium leprae* es el agente causal de la lepra, y a pesar de haber sido descrito en 1873 por el noruego Gerhard Armauer Hansen, no ha podido ser cultivado en medios artificiales hasta nuestros días; sólo se ha logrado su multiplicación en modelos animales como la almohadilla plantar del ratón, donde el crecimiento es limitado *in situ* con un tiempo de crecimiento óptimo entre 11 a 13 días; o en el armadillo y el mono, en los cuales se disemina y causa una enfermedad muy similar a la lepra lepromatosa del hombre. Actualmente, la lepra es un problema de salud en algunos países subdesarrollados.

Este bacilo, más corto que el *Mycobacterium tuberculosis*, se reproduce en vivo en los macrófagos de la piel (histiocitos) y en el de los nervios (células de Schwann), y a menudo se encuentra en las células endoteliales de los vasos sanguíneos; de este modo las lesiones se extienden, principalmente, a la piel y los nervios periféricos.

Mycobacterium leprae se halla en todos los fluidos corporales, pero su búsqueda se realiza en la linfa, en el moco nasal o en tejido biopsiado. La coloración se logra por la técnica

de Ziehl-Neelsen modificada (no se calienta la lámina con la fucsina y el tiempo de exposición a la misma se alarga hasta 20 minutos). Una vez teñidos los bacilos, se observan aislados, en haces de bacilos paralelos o en paquetes globulares denominados *globis*, los cuales son típicos de este microorganismo.

La estructura química de la pared celular del *Mycobacterium leprae* está compuesta por peptidoglucanos al cual se unen cadenas de polisacáridos (arabino-galactanos), unidas por ácidos micólicos. Las micobacterias producen una amplia variedad de glicolípidos que se asocian con la pared celular; así, por ejemplo, la espuma de la célula de Vischow es una cápsula de estructura vesicular o espumosa. Dentro de este grupo de glicolípidos, algunos son serológicamente activos, siendo el glicolípido fenólico-1 el más estudiado (GLP1); este posee grupos trisacáridos con propiedades específicas del *Mycobacterium leprae*; se plantea que es un factor de virulencia, por su capacidad de unión con el componente C3 del complemento, el cual media la fagocitosis con los elementos mononucleares a través de los receptores CR1, CR3 y CR4 que se encuentran en la superficie celular. Al ser fagocitada la micobacteria, esta no es destruida por oxidación, ya que el GLP1 lo impide con los radicales hidroxilo y aniones superóxidos.

El genoma de este microorganismo ha sido estudiado completamente, por lo cual permite clonar y secuenciar los genes que codifican sus principales antígenos proteicos. Las proteínas más importantes aisladas son: 12; 18; 28; 36; 65 y 70 kDa, pertenecientes al grupo proteico que se produce a partir de un shock calórico (*heat shock protein, hsp*). Son consideradas altamente inmunogénicas y han sido reconocidas por clones de células T reactivas a antígenos del *Mycobacterium leprae*. Otra estructura altamente inmunogénica es el complejo antigénico 85, que está relacionado estructuralmente con las moléculas de 28 a 31 kDa. Se ha demostrado que este complejo reacciona con anticuerpos y células mononucleares de pacientes de lepra y se han detectado epítopes de este complejo en la superficie celular de *Mycobacterium leprae*; por lo que se encuentra una marcada expresión de estos antígenos en los macrófagos de las lesiones de pacientes con lepra o en los tejidos de armadillos infectados con este microorganismo. Por las características inmunógenas de estas proteínas y del complejo antigénico 85, es posible que tengan una función en el proceso de infección por *Mycobacterium leprae*.

DATOS CLÍNICOS

Conociendo que el *Mycobacterium leprae* es un parásito intracelular de las células macrofágicas, ya podemos deducir que el paciente que desarrolla esta enfermedad es aquel que tiene afectado su sistema inmune; según los estudios realizados por Ridley y Jopling en 1966, el paciente de lepra desarrolla una u otra forma clínica dependiendo de su grado de inmunodepresión. Podemos decir, entonces, que en el curso de la enfermedad no sólo interviene el bacilo de Hansen, ella evoluciona en cada paciente según el compromiso inmunológico de cada cual; así, aquellos con alta deficiencia en los linfocitos T están propensos a evolucionar a la lepra más severa, la lepromatosa, y los que posean una menor deficiencia desarrollarán la más benigna, la tuberculoide. Los estudios han mostrado que los pacientes lepromatosos tienen un aumento en los niveles de los CD8 (supresores) circulantes, así como que la mayoría de los linfocitos presentes en los granulomas son de este tipo; en tanto que en los pacientes tuberculoides las células CD4 y colaboradoras son las predominantes. Por otra parte, la presencia de citocinas en las lesiones de ambos grupos de pacientes es diferente; los del polo lepromatoso presentan, en sus lesiones, predominio de las interleucinas IL-4 e IL-10, que son características de la respuesta de tipo Th2; y los pacientes del polo tuberculoide tienen un predominio de las citocinas Th1 con gran producción de interleucina (IL) 2, interferón γ (IFN γ) e IL-2.

En estos pacientes infectados con *Mycobacterium leprae* se presenta toda una gama de signos y síntomas que ofrecen un amplio espectro en sus manifestaciones, que van desde las afectaciones puramente neurales, sin manifestaciones cutáneas (lepra neural pura), hasta las lesiones más malignas, los nódulos en la lepra lepromatosa. Las lesiones afectan las zonas más frías del cuerpo: miembros, oreja, nariz, glúteos, dorso de la espalda, ojos, testícu-

los. Para su mejor estudio se emplea la clasificación de Ridley y Jopling, basada en la clínica, la bacteriología, histología y la inmunología, quedando así cinco formas clínicas: indeterminada, tuberculoide, lepromatosa, dimorfa o borderline y neural pura; cada grupo posee sus características propias, las cuales serán señaladas a continuación.

Forma indeterminada (LI). Muchos la creen la forma más temprana de la enfermedad; sus lesiones maculares hipo, hiper o acrómicas o rosadas, con disminución o ausencia de la sensibilidad en la lesión, generalmente son lesiones únicas y escasas localizadas con facilidad en los ejes longitudinales de los miembros, cara o glúteos. La bacteriología en raros casos es positiva. Su evolución es muy rápida una vez implantado el tratamiento adecuado.

Forma lepromatosa (LL). Es la forma más severa de la enfermedad, comprometiendo piel, mucosas, SNP y órganos internos. Se plantea que los pacientes no tratados de esta forma clínica son los responsables de mantener la cadena de transmisión de la enfermedad, ya que ellos expulsan una enorme cantidad de bacilos presentes en la mucosa nasal. Presentan lesiones múltiples, infiltradas, de coloración eritomatoviolácea, extendidas y con bordes no marcados, nódulos o lepromas que llegan a la ulceración. Se observan infiltraciones en manos, pómulos, lóbulos auriculares y alopecia total o parcial de cejas y pestañas; pueden presentar queratitis e iritis con enrojecimiento conjuntival y toman la configuración de la conocida "facie leonina"; también suelen estar presentes los procesos paralíticos de los nervios faciales, lo que produce la "facie anatómica o inexpresiva". Las afectaciones neurales no son tan relevantes como en la lepra tuberculoide. La baciloscopia es siempre positiva con índice bacteriológico (IB) de 1 a 6.

Forma tuberculoide (TT). Se observan lesiones únicas y de número escaso; son eritematosas, infiltradas y focalizadas con contornos definidos, y con frecuencia la rodean elementos pequeños que van desde pápulas hasta tubérculos. Se destaca el engrosamiento nervioso asimétrico y puede ser palpado el nervio. En la mayoría de los casos, el pronóstico es benigno, aunque este paciente puede tener secuelas tróficas invalidantes, dado el compromiso neural. Es característico la ausencia de sensibilidad y posee baciloscopia negativa, o sea, IB 0.

Forma borderline (LB). El paciente con este tipo de lepra puede desplazarse hacia alguno de los polos (lepromatosa o tuberculoide). Presenta tres tipos: uno de ellos es el borderline lepromatosa (BL) o subpolar lepromatosa, el cual puede evolucionar hacia el polo lepromatosa, pero manteniendo siempre algún cuadro de la forma tuberculoide; por ejemplo, los nervios pueden estar engrosados en forma asimétrica, en ellos se observan episodios reaccionales tipo II, conocido como eritema nudoso leproso. El otro tipo, el borderline tuberculoide, presenta las lesiones mayores en tamaño y número que las de los pacientes TT, siendo más infiltradas también; como es de esperar, el SNP está mucho más comprometido y los episodios reaccionales son del tipo I, conocido también como reacción de reversión o reversa; este proceso ocasiona deterioro precoz e irreversible de los nervios dañados. El tercer grupo, el borderline borderline (BB), es una forma intermedia entre ambos polos, por lo que tiene gran inestabilidad en su clínica; ofrece lesiones en placas, pápulas y máculas, además, presenta recorte de hostia con aspectos polimorfos y geográficos. El daño neural es menos severo que el polo TT, y en la baciloscopia se observan índices bacteriológicos bajos.

Forma neural pura (LNP). No son frecuentes los pacientes con esta forma de lepra; en ellos el bacilo afecta solamente los nervios y no se aprecian manifestaciones cutáneas de la enfermedad, por lo que su diagnóstico en ocasiones se hace difícil.

Siendo la lepra una enfermedad de países del Tercer Mundo, la Organización Mundial de la Salud ha orientado una nueva clasificación, la que comprende dos grupos: uno, los de lepra paucibacilar (LP, aquellos de baciloscopia negativa) y los de lepra multibacilar (MB, pacientes con baciloscopia positiva). Ella está basada puramente en la clínica y es muy funcional en aquellas regiones donde no se dispone de servicios de Histología y Bacteriología. Una vez realizado el diagnóstico, el médico o paramédico clasifica al paciente atendiendo al número de lesiones presentes; así, los enfermos que presenten hasta cinco lesiones, son considerados PB, y los que posean más de cinco lesiones son MB.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

El diagnóstico de la enfermedad está basado en el examen clínico, la biopsia de piel y la baciloscopia. La baciloscopia puede realizarse en muestras tomadas en la mucosa nasal o de la piel, siendo esta última la muestra generalizada.

La baciloscopia de moco nasal se obtiene por raspado de la mucosa del tabique, con asa de metal o con exudado de la misma, empleando hisopos estériles o colecta de moco en nylon estéril, y el proceso de coloración y lectura es igual para ambas muestras.

La muestra de la piel es la linfa que se obtiene de la lesión o efectuando incisiones en los lóbulos de las orejas y codos. Para la extracción de la muestra se procede a la desinfección de la piel con alcohol etílico de 70°, se pinzará la piel con el objetivo de anemizar la zona y con una hoja de bisturí No. 15 se realiza un corte de aproximadamente 5 mm de longitud y 2 o 3 mm de profundidad sin sacar la hoja de bisturí, y con movimientos rotatorios a uno y otro lado, se raspan los bordes internos de la misma. Con el borde sin filo es recogido el material y se coloca en un portaobjeto rotulado, limpio y desgrasado. La muestra se deja secar a temperatura ambiente para ser fijada con calor suave y vapores de formol alternativamente; tomando la lámina con la mano por el extremo donde fue rotulada con el número que le corresponde, se pasa por el lado contrario de la muestra tres veces sobre una llama suave, se coloca el porta en un vaso coplin que contenga una mota de algodón o papel de filtro con 5 gotas de formol para lograr vapores de formol y se deja la lámina por 2 minutos; se repiten estos pasos una vez más y de esta forma queda fijada la muestra en la lámina. La coloración se realiza por la técnica de Ziehl-Neelsen modificada. Para llevar a cabo este proceder, se coloca la lámina en el puente de coloración y la cubrimos con la solución de fucsina por 20 a 25 minutos (sin dar calor); se lava la lámina con agua corriente y se decolora con ácido clorhídrico al 1 % en etanol al 70 %, goteando la solución ácida sobre la muestra hasta que se vea incolora; se lava nuevamente en agua corriente y se añade una solución acuosa al 1 % de azul de metileno que se deja actuar un minuto; se repite el lavado y se deja secar la lámina para su lectura.

Las muestras deben observarse con objetivo de inmersión 100X y en ellas podemos encontrar cuatro tipos de elementos ácido-alcohol resistentes que se describen a continuación: *bacilos sólidos*, son bacterias que muestran una tinción uniforme en su totalidad; *bacilos fragmentados*, estos muestran una coloración irregular, con zonas mal coloreadas que les confieren un aspecto apolillado, pero no impiden delinear los contornos del bacilo, simulan la metacromasia observada en ciertas bacterias en la coloración de Gram; *bacilos granulados*, en ellos se observan zonas no teñidas en su espesor, perdiéndose el contorno de los mismos; en la mayoría de los casos sólo se ven como gránulos alineados. Por último tenemos los bacilos en cúmulo, más conocido como *globis*, esta es una agrupación bacilar típica de la forma lepromatosa. El globi es el contenido de un macrófago en el que los bacilos se han multiplicado hasta remplazar totalmente su citoplasma; al observarlo no se visualiza la forma celular, sino un paquete apretado de 50 a 100 bacilos o más, en los que resulta imposible ver la morfología individual.

La primera información de la baciloscopia se realiza mediante el índice bacilosκόpico (IB) y el índice morfológico (IM), como se indica a continuación.

Índice bacilosκόpico. Se utiliza la escala logarítmica de Ridley, va del 0 al 6+, la cual se basa en el promedio de bacilos observados en la lámina, contando los sólidos, los fragmentados y los granulados.

Índice:

- IB0 No se encuentra ningún bacilo en toda la lámina y como mínimo deben observarse 100 campos horizontales y 100 verticales.
- IB1 Se visualiza un promedio de 1 a 10 bacilos en 100 campos observados.
- IB2 Se aprecia un promedio de 1 a 10 bacilos cada 10 campos observados.
- IB3 El promedio de bacilos es de 1 a 10 bacilos por campo.
- IB4 Se visualiza un promedio de 10 a 100 bacilos por campo y pueden observarse globis.
- IB5 Se puede ver de 100 a 1 000 bacilos por campo. Se observan globis.
- IB6 Encontramos más de 1 000 bacilos por campo y la presencia de globis es característica.

Índice morfológico. Es el porcentaje de bacilos sólidos respecto al total de 100 bacilos ácido-alcohol resistentes encontrados. Se calcula observando 100 bacilos aislados y de ellos se cuentan cuántos son sólidos o viables, por lo que el IM se expresa en por ciento

(ejemplo: IM: 7 % o IM: 18 %). La morfología de los bacilos agrupados o en globis, es difícilmente apreciable, por lo que no son considerados en el IM.

La presencia de globis anuncia que el paciente es virgen de tratamiento, por tanto, es importante señalar en los resultados de la baciloscopia el número y tamaño de los globis observados; su presencia es característica de la lepra lepromatosa, forma polar de baja resistencia al bacilo.

Índices del paciente. Este criterio varía; existen países, como Argentina, donde se expresa como el promedio de todos los índices bacteriológicos o morfológicos. En Cuba se da como índice del paciente, el más alto que se reporte en la baciloscopia realizada. Sin embargo, el seguimiento del tratamiento se realiza mejor comparando los índices individuales de las tomas realizadas cada 6 meses en la misma lesión.

La importancia de los índices morfológicos radica en la correspondencia entre los bacilos sólidos y los bacilos vivos, y según se plantea, son los sólidos o viables los capaces de infectar a otras personas susceptibles y, en última instancia, los responsables de mantener la cadena de transmisión.

El índice bacilosκόpico descende durante el tratamiento, pero mucho más lentamente que el morfológico; sobre todo en los pacientes LL, se ha planteado en reiteradas ocasiones que se requiere de 6 meses a 1 año para que disminuya el IB en una codificación (ejemplo: de IB 4 a IB 3). Ambos índices descienden más rápidamente en los pacientes BL. En todos los casos, las curvas de descenso dependen de la medicación que se emplee.

Otros tipos de ensayos que se realizan en los laboratorios de diagnóstico son las pruebas serológicas, en las que se detectan los niveles de anticuerpos contra el glicolípido fenólico-1, el cual actúa como antígeno específico del *Mycobacterium leprae*; por esta razón no se les confiere un valor diagnóstico y su utilidad práctica se refleja en los estudios epidemiológicos de poblaciones y grupos de riesgos. Las técnicas más usadas son el ensayo inmunoenzimático sobre fase sólida (ELISA) o el sistema ultramicroanalítico (SUMA), desarrollado en Cuba para el diagnóstico y pesquiasaje de varias entidades. También se han aplicado técnicas de biología molecular en la detección y caracterización del bacilo, ejemplo de ellas son la PCR o el RFLP, pero el balance costo/beneficio no justifica su empleo para el diagnóstico de rutina.

TRATAMIENTO

La Organización Mundial de la Salud en la última década ha implantado el tratamiento de la multidrogo-terapia (MDT) con la finalidad de impedir a toda costa la aparición de cepas resistentes a las tres drogas de elección. La rifampicina (RMP), que tiene un gran poder bactericida contra el *Mycobacterium leprae* y al actuar directamente en la inhibición de la síntesis del ARN del germen, entre sus efectos colaterales se señalan la hepatotoxicidad, trombocitopenia y anemia. Su dosis es de 10 mg/kg peso/día y habitualmente se suministra 600 mg diarios. El dapsona (DDS), muchos le llaman la sulfona madre por haber sido la primera droga utilizada en el tratamiento de la lepra; ella interfiere en la síntesis del ácido fosfórico en la competencia con el ácido paraaminobenzoico; puede ocasionar anemia hemolítica, leucopenia, hepatitis tóxica, neuritis aguda, sicosis, intolerancia digestiva, entre otros; la dosis es de 1 a 2 mg/ kg peso/día, usualmente en personas mayores de 50 kg se utiliza 100 mg/día. La tercera droga recomendada por la OMS es la clofazimina (Clo), es un derivado de la anilinoaproxafanina con acción bacteriostática y antiinflamatoria, cuyo mecanismo de acción se desconoce y se supone que actúa estimulando la producción de prostaglandina E2 de glóbulos blancos. Como contraindicación se le atribuye la pigmentación de la piel y las mucosas, pero esta es reversible una vez suprimida la droga; puede provocar pérdida de peso, dolor abdominal, diarreas y xerodermia, cuando es utilizada a altas dosis en tratamientos prolongados; la dosis está entre 50 a 100 mg/día; si se emplea como antiinflamatorio puede utilizarse hasta 300 mg/día.

El esquema de tratamiento de la MDT para pacientes MB es: una toma supervisada mensual de 600 mg de RMP, 300 mg de Clo y 100 mg de DDS (día 1); para el resto del mes se indica 50 mg/día de Clo y 100 mg/día de DDS (del día 2 al 30). El tiempo de tratamiento es de 12 a 24 meses con pruebas hepáticas y exámenes de rutina.

En los paucibacilares se le impone el tratamiento con un mínimo de 6 hasta 12 meses, que consiste en una toma mensual supervisada de 600 mg/día de RMP y 100 mg/día de DDS (día 1 del mes). El resto del mes se orienta la toma diaria de 100 mg/día de la sulfona DDS.

EPIDEMIOLOGÍA

La lepra es una enfermedad infectocontagiosa crónica, de los países tropicales y subtropicales. En el momento de confeccionar este libro son 24 los países que poseen una tasa de prevalencia por encima de 1 por 10 000 habitantes, lo cual ocasiona un problema de salud en ellos. La distribución de estos países es la siguiente: en África se encuentran: Angola, Cameroon, República Central de África, Chad, Congo, Côte d'Ivoire, República Democrática del Congo, Etiopía, Gabón, Gambia, Guinea, Guinea B., Madagascar, Mozambique, Níger y Sierra Leona; en el Pacífico Occidental está Papua Nueva Guinea; del Sudeste Asiático son: India, Indonesia, Myanmar y Nepal; y en América, Brasil y Paraguay.

En Cuba, la tasa de prevalencia es de 1 por 10 000 habitantes desde 1993, cuando la lepra dejó de ser un problema de salud para la nación. Las provincias con mayor número de pacientes son Camagüey y Santiago de Cuba.

Hasta hoy no se conoce si existe algún tipo de relación entre la lepra extrahumana y la del hombre; tampoco se ha probado el papel que pudieran desempeñar insectos vectores y los agentes ambientales, y a pesar de haberse reportado la detección de anticuerpos anti-GLP1 en insectos hematófagos y en el suelo, la mayoría de los leprólogos no le confieren ninguna importancia. Aunque existen reportes de armadillos y monos encontrados en la naturaleza con una enfermedad muy similar a la lepra lepromatosa del hombre, sigue siendo este el reconocido como único reservorio de la lepra humana.

El máximo transmisor de la enfermedad es el paciente MB sin tratamiento; ellos expulsan en sus secreciones nasales más de 100 millones de bacilos diariamente y esto ha hecho pensar (ya que no ha sido probado) que las inhalaciones de estos bacilos durante un tiempo prolongado causan la infección del nuevo hospedero, el cual puede desarrollar o no la enfermedad según el estado de su sistema inmunológico. Se han hallado bacilos ácido-alcohol resistentes en exudados nasales de personas supuestamente sanas que son conviventes de pacientes MB no tratados.

El período de incubación de la enfermedad puede ir de 2 a 10 años y la edad más susceptible para adquirirla es la primera infancia. Según el sexo, la enfermedad incide más en el sexo masculino que en el femenino, tanto en adultos como en niños.

La lepra no se hereda, pero sí puede heredarse la deficiencia inmunológica que brinda la susceptibilidad para adquirirla, por lo tanto, no todas las personas que son infectadas con *Mycobacterium leprae* desarrollan la enfermedad; como sabemos, esto depende del estado del sistema inmunológico del individuo.

PREVENCIÓN Y CONTROL

El éxito del control y la prevención de esta entidad radica en la identificación precoz a los pacientes de lepra y administración del tratamiento eficaz; se plantea que el MDT es capaz de tener una eficacia del 99 % desde sus inicios. Otro factor que influye en estos propósitos es la vigilancia epidemiológica a través del estudio de la fuente de infección del paciente y sus conviventes intra y extradomiciliarios, así como los estudios seroepidemiológicos en poblaciones y grupos de riesgo. Todo esto, acompañado con una educación adecuada de los pacientes y población en general.

La experiencia cubana en este aspecto muestra sus logros al ofrecer una mejor calidad de vida a los pacientes de lepra. Para ello cuenta, desde 1997, con un Programa Nacional de Control de la Lepra, en el que intervienen en los distintos niveles del Sistema de Salud grupos multidisciplinarios de especialistas en: Medicina General Integral, Dermatología, microbiólogos, epidemiólogos, histopatólogos, psicólogos, enfermeras encuestadoras y personal paramédico.

El diagnóstico bacteriológico se realiza en cualquiera de los laboratorios que constituyen la red, entre los cuales se encuentran los laboratorios de los centros municipales (CMHE)

y de los hospitales especializados en este servicio; es en ellos donde, generalmente, se realiza el estudio, además de ser supervisada cada baciloscopia por los centros provinciales de Higiene y Epidemiología (CPHE), los que jerarquizan los CMHE y los hospitales. A su vez, los CPHE envían sus láminas al Laboratorio Nacional de Referencia para el control de la calidad del diagnóstico y seguimiento bacteriológico de los pacientes hansenianos. En Cuba, la lepra es considerada una enfermedad de declaración obligatoria, por lo que cada paciente posee un registro epidemiológico que permite tener un control de su evolución, seguimiento en la administración del tratamiento y control de los convivientes susceptibles a desarrollar la enfermedad.

RESUMEN

Las micobacterias son bacilos aerobios, no esporulados, no capsulados e inmóviles. La propiedad más distintiva es su tinción característica. Se tiñen con dificultad, pero una vez teñidas, son resistentes a la decoloración con alcohol-ácido. Por esta razón se denominan bacilos ácido-alcohol resistentes o BAAR. Su contenido en lípidos es elevado y su crecimiento es lento.

Hay más de 50 especies de micobacterias, incluyendo muchas que son saprófitas, las cuales están presentes en el suelo, agua, alimentos y en varias clases de animales. Los miembros patógenos de la familia causan algunas de las infecciones humanas más importantes, incluyendo lepra y tuberculosis.

Otras micobacterias no tuberculosas (MNT) o "atípicas" (complejo *Mycobacterium avium-intracellulare*) infectan frecuentemente a pacientes con SIDA; son organismos patógenos oportunistas en otras personas inmunodeficientes, y en ocasiones producen enfermedad en pacientes con el sistema inmunitario normal.

La contribución del laboratorio al diagnóstico de enfermedad micobacteriana puede dividirse en tres fases: detección y aislamiento de micobacterias, identificación de las micobacterias aisladas y determinación de la susceptibilidad a las drogas.

La detección de BAAR en frotis teñidos (tinción de Ziehl-Neelsen o Kinyoun), es el procedimiento más sencillo y más rápido tanto para el diagnóstico como para el control del tratamiento en la TB pulmonar. Es necesario realizar la confirmación por cultivo de la presencia de *M. tuberculosis* y llevar a cabo la determinación de la susceptibilidad a los antimicobacterianos.

El *Mycobacterium leprae* es un parásito intracelular, que afecta los macrófagos de la piel y los nervios; no es cultivable y sólo se logra su multiplicación en modelos animales. La muestra útil para la observación del germen es la linfa de la piel o muestras de exudado o raspado de la mucosa nasal. Es el agente causal de la lepra en el hombre, la cual, además, tiene un fuerte componente inmunológico que determina el tipo de lepra que desarrollará el paciente desde las formas lepromatosas o multibacilares cuando la inmunodepresión es severa, hasta las formas tuberculoides o paucibacilares.

BIBLIOGRAFÍA

- Balandrano S, Anzaldo G, Peña GP, Betancourt X. Manual de procedimientos de laboratorio INDRE/SAGAR. Tuberculosis. México, 1996.
- Baliña LM, Valdés RP. Actualizaciones terapéuticas dermatológicas. Suplemento La lepra en la última década del siglo xx. Vol. 19. Sep./Oct. 1996.
- Brock TD, Madigan MT, Martinko JM, Parker J. Biology of microorganisms. 7th ed. N.J., USA: Ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, 1994.
- Brooks GF, Butel JS, Ornston LN. *En: Jawetz, Melnick and Adelberg. Microbiología Médica*, 16ta ed. México: El Manual Moderno SA, 1999.
- Chochrane RG, Davey TF. Leprosy in theory and practice. 2nd ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1964.
- Grange JM. *Mycobacterium. En: Greenwood KCD, Slack B, Penthever JF. Medical Microbiology*. 15th . Ed. Edinburgh, England: Churchill Livingstone, 1997.
- Hasting RC. Leprosy. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone, 1985.
- Howard BJ, Keiser JF, Weissfeld AS et al. Clinical and Pathogenic Microbiology. 2nd ed. Washington, USA: Ed. Mosby-Year Book, Inc., 1994.
- Jereb JA, Cauthen GM, Kelley GD, Geiter LJ. The epidemiology of tuberculosis. *En: Fredman LG. Tuberculosis: current concepts and treatment*. USA: Ed. CRC. Press. Inc, 1994.
- Jopling WH. Handbook of Leprosy. 2nd ed. London: William Heinemann Books LTD, 1978.

-
- Kent PT, Kubica GP. Public Health Mycobacteriology: a guide for the level III laboratory. Atlanta, USA: Centers for Disease Control, 1985.
- Marrero AL, Carreras JA, Valdivia E, Montoro E et al. Programa Nacional de Control de la Tuberculosis. Manual de Normas y Procedimientos. La Habana, Cuba: Ed. Ciencias Médicas, 1999.
- Noorden SK. Eliminating leprosy a public health problem: why the optimism is justified. Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis 63:559,1995.
- Ridley ML, Ridley DS. Staining technique and morphology of *Mycobacterium leprae*. Lepr. Rev. 42: 88-95,1971.
- Ridley, DS. Histological classification and the immunological spectrum of leprosy. Bull. World Health Orgn. 51:451-65,1974.
- Roberts GD, Koneman EW, Kim YK. *Mycobacterium*. En: Balows A, Hansler WJ, Hermann KL et al. Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. Washington DC Ed. American Society for Microbiology, 1991.
- Ruiz A. Tuberculosis. En: Valenti F. Medicina Interna. Madrid, España: Ed. Mosby-Doyinc Libros SA, 1995.
- Smith PG, Mass AR. Epidemiology of tuberculosis. In: Bloom BR. Tuberculosis: pathogenesis, prevention and control. Washington D.C.: Ed. American Society for Microbiology, 1994.
- Suárez Moreno O. Manual técnico de baciloscopia de lepra. Folleto docente. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", Cuba, 2000.
- Thangaraj RH, Yawalkar SJ. Leprosy for medical practitioners and paramedical workers. Third edition revised, Switzerland, 1988.

A graphic element consisting of a light-colored oval with a textured background. Inside the oval, the word "Capítulo" is written in a purple, serif font at the top, and the number "37" is written in a larger, purple, serif font below it. A horizontal purple line extends from the right side of the oval across the page.

Capítulo

37

Microorganismos espirilares

Olga A. Ginebra González

INTRODUCCIÓN

Las espiroquetas constituyen un grupo grande y heterogéneo de organismos espirilares móviles, consideradas bacterias “raras” tanto por su morfología y estructura características, como por su mecanismo de motilidad. Pertenecen al orden Spirochaetales, que abarca dos familias: *Spirochaetaceae* y *Leptospiraceae*. A la familia Spirochaetaceae pertenecen dos grupos grandes de microorganismos de vida libre y no patógenos: los géneros *Cristispira* y *Spirochaeta*; y dos grupos patógenos: los géneros *Treponema* y *Borrelia*. La familia *Leptospiraceae* sólo tiene un género, *Leptospira*, patógeno para el hombre y los animales.

Estos agentes poseen las siguientes características estructurales:

Desde el punto de vista estructural de la superficie del germen hacia adentro existen: una envoltura o vaina externa que protege el cilindro protoplasmático. Flagelos periplásmicos, endoflagelos o fibrillas axiales, con filamentos cuyo número depende del género, situados entre la envoltura externa y la pared celular, insertados por discos terminales en ambos extremos de la bacteria. Su estructura, propiedades físicas y químicas son similares a las de los flagelos bacterianos. Los cuerpos basales de estos filamentos son similares a los de las bacterias gramnegativas.

Poseen una capa peridural, en la que se encuentra incrustado el flagelo periplásmico, de la cual, las fibrillas parecen surgir. El soma o cilindro protoplasmático en forma de hélice o espiral, con varias espiras que pueden estar separadas por espacios que dependen del género, limitado por la membrana citoplasmática, con componentes citoplasmáticos interiores y una pared celular de peptidoglucano, que retiene la configuración helicoidal cuando se aísla, lo que indica que posee influencia sobre la forma de la bacteria.

Las espiroquetas (**speira**, espiral; **chaete**, pelo) son bacterias relativamente largas, tues y flexibles en forma de espiral, de hélice o como olas ondulantes; miden de 5 a 40 μm con un diámetro de 0,1 a 0,5 μm . La mayoría no pueden ser vistas con el microscopio ordinario de campo claro y sólo se observan por microscopía de campo oscuro o teñidas con determinados reactivos como las sales de plata. Al examen microscópico muestran movimientos característicos por contracción del filamento axial: de flexión, reptación, rotación alrededor de su eje longitudinal, en serpentina u horadación; lo que permite diferenciar algunas. Todos muestran determinadas características estructurales.

Aunque los miembros de los géneros patógenos para el hombre y los animales, *Treponema*, *Leptospira* y *Borrelia*, poseen morfología casi similar, son heterogéneos en cuanto a fisiología y hábitat, y tienen determinadas características que los diferencian entre sí (Cuadro 37.1). *Leptospira* posee los extremos semicirculares, en forma de gancho; *Treponema* termina en puntas finas, como "sacacorcho" invertido, ambos tienen las espiras muy apretadas, lo que los diferencia de *Borrelia*, que posee gran separación entre las espiras y es mucho más larga y ancha que las anteriores.

Cuadro 37.1. Caracteres diferenciales de espiroquetas patógenas**

	<i>Treponema</i>	<i>Borrelia</i>	<i>Leptospira</i>
Longitud (µm)	5-15	5-30	5-20
Diámetro(µm)	0,2	0,5	0,1
Espiras	Regulares y apretadas (5-20)	Irregulares y amplias (3-10)	Numerosas, regulares y apretadas (30-50)
Extremidades	Afiladas	Afiladas	Incurvadas
Fibrillas	1-5 (3)	15-20	2
Observación en fresco	Campo oscuro y contraste de fases	Microscopio ordinario	Campo oscuro y contraste de fases
Tinciones	Impregnación argéntica	Giemsa o Gram	Impregnación argéntica
Cultivo <i>in vitro</i>	No	Sí	Sí
Condiciones respiratorias	Microaerófilas*	Anaerobias	Aerobias
Metabolismo	Fermentativo	Fermentativo	Oxidativo
Especie patógena	<i>T. pallidum</i>	<i>B. recurrentis</i>	<i>L. interrogans</i>
Reservorio	Hombre	Animales y artrópodos	Animales
Enfermedad fundamental	Sífilis	Fiebres recurrentes Enfermedad de Lyme**	Enfermedad de Weil

* Brooks GF, Butel JS, Ornston LN. Espiroquetas y otros microorganismos espirilares. En: Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 15ta ed. en español. México D.F.: Ed. El Manual Moderno, 1995: 335-47.

** Tomado de: Pumarola A. *Leptospira*. En: Pumarola A *et al.* Microbiología y Parasitología. Cap. 49. España, 1994:544-50.

TREPONEMA

Es uno de los géneros patógenos de la familia *Spirochaetaceae*, e incluye las especies patógenas humanas:

1. *Treponema pallidum* (subespecie *pallidum*): agente etiológico de la sífilis venérea.
2. *Treponema pallidum* (subespecie *endemicum*): agente etiológico de la sífilis endémica (Bejel).
3. *Treponema pallidum* (subespecie *pertenue*): agente etiológico del pian o frambesia.
4. *Treponema carateum*: agente etiológico de la pinta o mal de Pinto.

Estas especies son indistinguibles desde el punto de vista morfológico y antigénico. Su individualización se debe a características clínicas y epidemiológicas, así como a su distribución geográfica. Entre los animales, la especie *T. cuniculi* es la responsable de la treponematosi del conejo. Ninguna especie patógena se cultiva, a pesar de la gran cantidad de investigaciones realizadas con este fin. No obstante, *T. pallidum* se multiplica en el testículo del conejo. Los treponemas comensales forman parte de la flora normal de las mucosas en muchos animales. En su mayoría se cultivan.

En el hombre se han descrito varias especies frecuentes en la cavidad oral y en el tracto genital: *T. vincentii*, que puede transformarse en patógeno produciendo la angina de Vincent cuando aumenta su número y se asocia a bacilos fusiformes en la boca; *T. refringens* y *T. phagedenis*, cuya variedad de fácil cultivo (treponema de Reiter) es de utilidad en el estudio serológico de la sífilis. La especie tipo de este género es el *T. pallidum*.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. *Treponema pallidum* (espiroqueta de Schaudin y Hoffmann, 1905) no se distingue de otros treponemas patógenos. Desde el punto de vista morfológico, es un organismo espiral muy fino; mide de 5 a 20 μm de largo y 0,2 μm de ancho. Presenta de 4 a 14 espiras de igual tamaño, separadas 1 μm una de otra, que aumentan en periodicidad y disminuyen en amplitud hacia los extremos, dando forma afilada a la célula. Los treponemas patógenos terminan en punta fina (como un sacacorchos invertido), los no patógenos tienen los extremos redondeados. Estos organismos son muy móviles en medios líquidos, giran alrededor de su eje longitudinal y poseen movimientos muy vigorosos de flexión y traslación. En medios más viscosos pueden tener movimientos de reptación.

Treponema pallidum y otros treponemas patógenos no cultivables tienen tres fibrillas axiales insertadas en cada extremo del cilindro protoplasmático, las que se superponen en la porción media del organismo. Se ha demostrado la existencia de una capa viscosa por fuera de la membrana externa de estas espiroquetas, compuesta, en parte, por macromoléculas del hospedero, hecho que contribuye a su virulencia y explica la no reactividad serológica de treponemas frescos, recién aislados.

Los treponemas, debido a su fina estructura, sólo se observan en fresco por microscopía de campo oscuro y de contraste de fases. No se tiñen con los colorantes de anilina (como el comensal *T. vincentii*), pero sí por Giemsa y métodos de impregnación argéntica, como el método de Fontana-Tribondeau que utiliza nitrato de plata, el cual se transforma en plata metálica en la superficie de la espiroqueta, y se deposita en forma de placas; esto los hace más gruesos y permite su visualización por el microscopio de luz de campo brillante, aunque los deforma.

Cultivo. *Treponema pallidum* es microaerófilo, no ha sido cultivado nunca en medios artificiales, huevos embrionados o en cultivo de tejidos. La cepa Reiter (treponema no patógeno) se cultiva *in vitro* en condiciones de anaerobiosis, en un medio que contiene 11 aminoácidos, vitaminas, minerales, albúmina de huevo y sales. *T. pallidum* mantiene su viabilidad y motilidad algún tiempo en el medio de Nelson, que contiene albúmina, vitaminas, sales, aminoácidos y cofactores, y en atmósfera con un 95 % de N y 5 % de CO₂.

Características del crecimiento. La multiplicación de *Treponema pallidum* ocurre por fisión binaria transversal y el tiempo de generación se ha estimado en 30 horas.

Los animales de experimentación más sensibles a *T. pallidum* son el chimpancé y el conejo. Se ha mantenido todos estos años una cepa de *T. pallidum* (cepa Nichols, 1912), por subcultivos sucesivos cada 15 días en testículo del conejo. Al animal se le produce una orquitis abundante en treponemas, los que mantienen su virulencia y se utilizan como antígeno en pruebas serológicas específicas para el diagnóstico de la sífilis.

Reacción a agentes físicos y químicos. *Treponema pallidum* muere rápidamente por la desecación, lo que explica que se transmita sólo por contacto. Mediante congelación en nitrógeno líquido se puede conservar su viabilidad por algún tiempo. Se mantiene vivo y móvil de 3 a 5 días a 25 °C en líquidos hísticos y 24 horas a 4 °C en sangre total o plasma, hecho de importancia práctica en la sífilis asociada a transfusiones. Son destruidos al elevarse de la temperatura por encima de 42 °C, por los arsenicales, el mercurio y el bismuto. Son sensibles a la penicilina y pueden ser reactivados por compuestos que contengan grupos –SH, por ejemplo, cisteína o BAL (dimercaprol). La supervivencia, motilidad y virulencia mejoran por incubación a bajas concentraciones de oxígeno en ciertas líneas celulares.

Los treponemas patógenos se pueden propagar *in vivo* en animales de laboratorio, pero muy pobremente *in vitro*. Los resultados son inconsistentes empleando cultivos de tejidos y los subcultivos no resultan viables. Los intentos con embriones de pollo también han fracasado.

Muchos treponemas no patógenos (algunas especies de la boca y las cepas cultivables de Reiter, Noguchi y Kazan), han sido cultivados en gran variedad de medios artificiales.

Variaciones. Se ha evidenciado en *Treponema pallidum* un ciclo vital que incluye etapas granulares y cuerpos esféricos cistoideos, además de la forma espiroquetal. La capacidad que muestra *T. pallidum* para atravesar filtros bacteriológicos ha sido atribuida a la filtrabilidad del estadio granular.

Debido a que sólo se dispone de métodos *in vivo* para estudiar las variaciones de este agente, se conoce muy poco acerca de sus mutaciones. Se sabe que algunas cepas, obtenidas de aislamientos primarios de pacientes con frambesia o pian, producen lesiones típicas de esta enfermedad experimentalmente, pero después de subcultivos repetidos en conejo, dan lugar a lesiones malignas de sífilis experimental. Estos cambios pueden deberse a la selección de mutantes *in vivo*. No ha sido reportado *Treponema pallidum* resistente a la penicilina.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Debido a que *T. pallidum* no ha sido cultivado nunca, lo que se conoce es a partir de anticuerpos formados en la evolución de infecciones de animales de experimentación y de treponemas comensales cultivables.

De esta forma se conocen cuatro grupos de antígenos:

1. *El hapteno lipídico de Wasserman o cardiolipina*: componente importante de los antígenos treponémicos, es un fosfatidil-glicerol presente en los treponemas y en otras bacterias, plantas y otros tejidos animales, sobre todo en el músculo cardíaco. Las llamadas reagentes son verdaderos anticuerpos que se forman contra este hapteno, por lo que este nombre tiende al desuso con el fin de evitar confusiones con la IgE de la alergia atópica.
2. *Antígeno proteico específico de grupo*: se localiza en los endoflagelos (filamento axial) de los treponemas comensales y patógenos. Se demuestra con suspensiones de treponema de Reiter por reacción de fijación del complemento. Actualmente es de poco valor en el diagnóstico.
3. *Antígenos proteicos específicos de los treponemas patógenos*: intervienen en la respuesta de base celular con fenómenos de hipersensibilidad retardada que ocurren en el desarrollo de la sífilis. Parecen ser idénticos en las tres especies de treponemas.
4. *Antígenos polisacáridos específicos de los treponemas patógenos*: intervienen en las reacciones serológicas específicas para *Treponema pallidum* (inmunofluorescencia, hemaglutinación) y son iguales en las tres especies. Se ha determinado, además, la presencia de otros antígenos de la vaina que actúan inhibiendo la muerte de los microorganismos mediada por anticuerpos y complemento. En la superficie de *T. pallidum*, hay ácido siálico, el cual actúa inhibiendo la activación de la vía alterna del complemento. *T. pallidum* (subespecie *pallidum*) tiene hialuronidasa, que es un factor de virulencia. Se han encontrado más de 100 antígenos proteicos en todas las subespecies de *T. pallidum*. Los endoflagelos están constituidos por tres proteínas centrales, homólogas a otras flagelinas bacterianas, además de una proteína de la vaina no relacionada. Las lipoproteínas son abundantes y parecen tener importancia en la respuesta inmune.

En general, en el hospedero humano, *Treponema pallidum* da lugar a la formación de dos clases de anticuerpos, de gran importancia en el diagnóstico serológico de la sífilis:

1. Anticuerpos antitreponémicos o específicos, que inmovilizan, matan, dan reacción de fijación del complemento e inmunofluorescencia positivas en presencia de *T. pallidum* vivos y móviles o espiroquetas relacionadas.
2. Reagentes o anticuerpos inespecíficos, que dan aglutinación y fijación del complemento en presencia del antígeno de cardiolipina. La determinación de ambos tipos de anticuerpos se utiliza actualmente para el diagnóstico de la sífilis.

Las pruebas de anticardiolipina han sido designadas como pruebas serológicas para sífilis, para distinguirlas de las pruebas antitreponémicas desarrolladas en años recientes. Debido a que la cardiolipina es un constituyente normal de los tejidos del hospedero, existen controversias sobre si el primer estímulo antigénico para el desarrollo de los anticuerpos de Wasserman (anticardiolipina) proviene de los microorganismos invasores o del hospedero, en una respuesta autoinmune. La aparición de estos anticuerpos en otras enfermedades como el lupus eritematoso, corrobora la teoría autoinmune.

Para servir como estímulo inmunogénico para los anticuerpos de Wasserman, la cardioplipina libre (un hapteno) debe unirse a un portador adecuado. La composición lipídica de los treponemas cultivables depende, en gran medida, de los lípidos presentes en el medio de cultivo; los treponemas patógenos que crecen *in vivo* tienen acceso a gran cantidad de cardioplipina que pueden incorporar. Con la célula microbiana como portador, la cardioplipina acoplada actúa como un determinante antigénico.

PATOGENIA

Se conoce muy poco sobre los componentes de *T. pallidum* que tienen que ver con la fisiopatología de la enfermedad. Los treponemas patógenos exhiben una intensa flexibilidad en los tejidos, antes de adaptarse a los espacios intercelulares. Su infecciosidad depende de su adhesión a las membranas celulares y a su multiplicación activa en los tejidos, sin que intervenga la liberación de toxinas. Esta adhesión a los tejidos está mediada por adhesinas treponémicas que reconocen la secuencia Arg- Gli- Asp- Ser o fibronectina.

Los treponemas patógenos tienen los extremos terminados en punta fina, no así los no patógenos, cuyos extremos son redondeados. Estos extremos afilados son usados para el ataque a las células del hospedero.

De importancia en la patogenia de la sífilis y otras enfermedades relacionadas, es la existencia de una capa mucosa, por fuera de la membrana externa del *T. pallidum*, compuesta, en parte, por mucopolisacáridos del microorganismo y, en parte, por macromoléculas del hospedero, lo que explica la no reactividad serológica de treponemas frescos recién aislados. Además, esto puede contribuir a su virulencia, dado el efecto antifagocitario de los componentes mucopolisacáridicos que, además, impiden la actuación de los anticuerpos y pueden tener efecto supresor sobre la respuesta inmune. *Treponema pallidum* parece que evade la respuesta inmune humoral del hospedero por expresión de un número mínimo de proteínas en su membrana externa. En pacientes que desarrollan un síndrome nefrótico, el depósito de complemento, antígeno treponémico e inmunoglobulinas que se observa en los glomérulos, es típico de la glomerulonefritis por inmunocomplejos.

Las lesiones del estadio terciario de esta enfermedad pueden contener muy pocos microorganismos, pero frecuentemente evolucionan con necrosis y daño hístico extenso, tal vez involucrando una respuesta de hipersensibilidad retardada. En el conejo, los treponemas se multiplican mejor en tejidos periféricos, donde la temperatura está varios grados por debajo de los tejidos internos. El enfriamiento de la piel puede incrementar el número de las lesiones en el estadio sistémico de la enfermedad. La fiebre inducida se usó en la antigüedad para el tratamiento de la sífilis. El pretratamiento de conejos con cortisona da lugar a la formación de grandes sífilomas cutáneos, con gran cantidad de ácido hialurónico y de treponemas móviles.

PATOLOGÍA Y DATOS CLÍNICOS

La sífilis es una enfermedad que se caracteriza por una serie de fases o etapas bien definidas, separadas por períodos de latencia más o menos asintomáticos que pueden durar años, en los cuales sólo la serología permite el diagnóstico. Para una mejor comprensión de la patología de esta enfermedad, la dividiremos en:

1. Sífilis adquirida.
2. Sífilis congénita.
3. Sífilis experimental.

Sífilis adquirida no tratada. Se divide en tres fases perfectamente diferenciadas: sífilis primaria, sífilis secundaria y sífilis terciaria. El *Treponema pallidum* penetra a través de la mucosa intacta o de abrasiones (rasguños o arañazos) de la piel, en contacto con lesiones primarias y secundarias, muy ricas en treponemas. A partir de estas ingresa al organismo y en horas o días los treponemas penetran en el sistema linfático o en el torrente sanguíneo y se diseminan por todo el organismo.

Sífilis primaria: en la puerta de entrada, los treponemas patógenos se multiplican, dando lugar a la formación de la lesión primaria característica de la sífilis, el chancro duro. Este aparece de 2 a 10 semanas después de la infección y con él se inicia la fase primaria de la sífilis. Esta lesión se caracteriza por la aparición de una pápula en el sitio de entrada, que se transforma en una úlcera de base limpia, no dolorosa y de bordes duros. La inflamación se caracteriza por el predominio de linfocitos y células plasmáticas; los treponemas se multiplican activamente en las lesiones, por lo que son muy contagiosas. El chancro cura con tratamiento y deja fibrosis y cicatrización que se acompañan de linfadenopatía regional (adenopatía satélite). A partir del chancro, los treponemas se diseminan por vía linfática y hematógena.

Sífilis secundaria: después de un período de latencia de 2 o 10 semanas a 2 años, aparecen las lesiones de la sífilis secundaria. Este período comienza con una intensa espiroquetemia, que da lugar a lesiones en diversos órganos y a una sintomatología claramente sistémica (con síntomas generales) que ceden en 2 a 6 semanas gracias a la intensa respuesta inmune del hospedero. Esta etapa se caracteriza, además, por la aparición de una erupción (exantema maculopapuloso rojo) en cualquier parte del cuerpo, frecuentemente en las mucosas y en la piel (incluyendo palmas y plantas de manos y pies), y la aparición, también, de pápulas pálidas, húmedas (condilomas) en región anogenital, axilas y boca. Estas lesiones son ricas en espiroquetas, muy contagiosas y sanan también espontáneamente. El paciente puede presentar meningitis sífilítica, hepatitis, nefritis (del tipo complejo inmunitario), coriorretinitis y periostitis. Todas estas lesiones sanan sin tratamiento en un período de 2 a 3 semanas y la enfermedad permanece en forma latente. A partir de entonces el individuo no es infeccioso. La sífilis puede permanecer subclínica durante los períodos primario y secundario; a pesar de esto, tales pacientes pueden desarrollar lesiones terciarias tardías. Un tercio de los individuos con sífilis secundaria cura espontáneamente y ya no es infeccioso.

En los siguientes 3 o 4 años, un tercio desarrolla una infección latente, caracterizada por la aparición de anticuerpos treponémicos específicos, pero no síntomas de la enfermedad. El tercio restante desarrolla la sífilis terciaria tardía.

Sífilis terciaria: esta fase se caracteriza porque ocurre de 3 a 20 años después de la infección inicial. Las lesiones granulomatosas típicas de la sífilis tardía son conocidas como "gomas". Estas pueden afectar la piel, las membranas mucosas, tejidos blandos, huesos, ojos, Sistema Nervioso Central (SNC) y sistema cardiovascular. Las lesiones en el SNC pueden llevar a la parálisis general y las del sistema cardiovascular, resultar en aneurisma de la aorta, insuficiencia cardíaca, aortitis e insuficiencia de la válvula aórtica. La afectación del SNC en la sífilis es casi siempre asintomática. La neurosífilis sintomática aparece como un conjunto de síndromes clínicos que pueden suceder en algún momento después de la infección primaria. La sífilis meníngea, que generalmente ocurre dentro del primer año de la infección, se caracteriza por rigidez de nuca, náuseas y vómitos. Los nervios craneales pueden estar involucrados, afectándose la audición y la visión; rara vez se afecta la columna vertebral. La sífilis meningovascular se presenta como una isquemia focal del SNC o como un derrame cerebral; ocurre de 4 a 7 años después de la infección.

La neurosífilis parética es una enfermedad demencial progresiva y crónica, que ocurre típicamente varias décadas después de la infección. Los síntomas de la tabes dorsal son: ataxia sensorial, atrofia óptica, dolores retroorbitarios y disfunción autonómica. En estas lesiones terciarias los treponemas no aparecen o son muy raros. La respuesta exagerada del tejido se atribuye a alguna forma de hipersensibilidad retardada hacia los organismos infectantes. A pesar de esto, se han encontrado, en algunas ocasiones, treponemas en el ojo y en el SNC en la sífilis tardía.

Sífilis congénita. La madre embarazada sífilítica puede transmitir el *Treponema pallidum* a la corriente sanguínea del feto por vía transplacentaria, entre la 10ma y la 15ta semana de la gestación, y no sólo a partir del 4to mes, como tradicionalmente se ha considerado. Puede ocurrir que el feto muera y se produzca aborto espontáneo; otros fetos llegan a término, pero nacen muertos y aun otros, nacen vivos con los estigmas de la sífilis congénita: queratitis intersticial, tibia en sable, dientes de Hutchinson, nariz en silla de montar, catarata congénita y otras anomalías del Sistema Nervioso Central.

En general, las lesiones de sífilis congénita semejan las de sífilis adquirida y son de duración comparable. En niños que no sobreviven más que pocas semanas, el proceso es

generalmente agudo, caracterizándose por invasión extensa de casi todos los tejidos del organismo.

Sífilis e inmunodeficiencia adquirida viral (VIH). Las defensas del hospedero se afectan de forma progresiva en las infecciones por VIH. En los casos en que ambas enfermedades (sífilis y SIDA) concomitan en un paciente, la evolución clínica de la sífilis dependerá, en gran medida, del grado de inmunodeficiencia que presente. El cuadro clínico de la sífilis logra variar en estos individuos. La transmisión y adquisición del VIH puede depender de úlceras sifilíticas genitales. El diagnóstico de laboratorio alcanza a ser diferente y el tratamiento será menos efectivo.

Sífilis experimental. A pesar de que sólo los humanos son los hospederos naturales del *Treponema pallidum*, un grupo de animales de laboratorio (conejos, monos y chimpancés) pueden ser utilizados en infecciones experimentales. Particularmente los conejos, es posible inocularlos en el ojo, piel, testículos o escroto. El animal desarrolla un chancro rico en espiroquetas, las que pueden aislarse durante toda la vida del animal, aunque no exista la enfermedad progresiva. Los organismos viables pueden aislarse de los ganglios linfáticos, el bazo y la médula. Se plantea que a partir de la inoculación de un solo organismo se inicia la infección. De los estudios con diferentes dosis infectivas se ha podido determinar que el tiempo de multiplicación *in vivo* de estos organismos es entre 24 y 36 horas.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Aunque el cuadro clínico de la sífilis es, en determinados casos, concluyente, debe hacerse el diagnóstico de laboratorio antes de iniciar el tratamiento. Puede suceder que los períodos primario y secundario de esta enfermedad transcurran sin manifestaciones clínicas, por lo que se hace necesaria la realización de exámenes serológicos como parte del chequeo clínico a trabajadores, embarazadas, etc.

Muestras. Líquido hístico extraído de las lesiones primarias y secundarias (chancro, adenopatías, condiloma, sífilides) para examen directo, suero sanguíneo y líquido cefalorraquídeo (neurosífilis) para exámenes serológicos.

Las muestras de las lesiones para microscopia deben ser obtenidas, previa limpieza de su superficie con solución salina estéril. Debe rasparse con bisturí estéril (teniendo cuidado de que no sangre), hasta que aparezca un fluido seroso, que debe ser tomado en una lámina portaobjeto y después cubierto con un cubreobjeto, para examinarse rápidamente. Las muestras de suero o plasma deben guardarse a -20°C .

Examen microscópico. Se realiza mediante observación en campo oscuro. Los productos patológicos deben ser examinados por personal experimentado en un microscopio con condensador de campo oscuro, buscando las espiroquetas móviles características terminadas en punta fina.

Inmunofluorescencia directa: se extiende líquido hístico de las lesiones en un portaobjeto que se seca al ambiente y se envía al laboratorio, donde se fija y se colorea con suero antitreponema marcado con fluoresceína. Se observarán en el microscopio de fluorescencia las típicas espiroquetas fluorescentes.

Pruebas serológicas para sífilis (PSS)

Actualmente, las pruebas serológicas que se usan para el diagnóstico de la sífilis se agrupan en:

1. Pruebas serológicas inespecíficas con antígeno no treponémico (cardiolipina), que detectan reaginas.
2. Pruebas serológicas específicas con antígeno treponémico, que detectan anticuerpos antitreponémicos.

En el serodiagnóstico de la sífilis, los conceptos de sensibilidad y especificidad son más importantes que en todas las demás pruebas serológicas. La sensibilidad, en serología de sífilis, se define como la frecuencia con que pueden ser detectados los enfermos sifilíticos.

La especificidad es la frecuencia con que la reacción resulta positiva en casos no positivos. Si esta frecuencia resulta baja, la especificidad es alta, por tanto, la reacción en que no apareciera ningún falso positivo sería específica.

En sífilis ninguna prueba es absolutamente sensible y específica; por esto es necesario analizar los resultados de la combinación de estas para llegar a un diagnóstico correcto.

Pruebas serológicas inespecíficas con antígeno de cardioplipina

En estas pruebas el antígeno utilizado es la cardioplipina. La cardioplipina purificada extraída del corazón de buey es un disfosfatidilglicerol que requiere la adición de lecitina y colesterol o de otros "sensibilizadores" para que reaccione con la reagina de la sífilis. La reagina está constituida por una mezcla de anticuerpos IgM e IgA que reaccionan contra antígenos ampliamente distribuidos en los tejidos normales. Se encuentra en el suero del paciente a partir de la 2da a 3ra semana del inicio de la enfermedad sífilítica no tratada y en el líquido cefalorraquídeo (LCR) después de la 4ta a 8va semana.

Para la determinación de la presencia de las reagentas se utilizan dos tipos de reacciones: la microaglutinación en placa y la fijación del complemento.

Las reacciones de microaglutinación en placa han sido estandarizadas. La técnica más utilizada se denomina VDRL (Venereal Disease Research Laboratory), si bien los clínicos de la escuela francesa prefieren una técnica similar, llamada de Kline, que es una variante de aglutinación pasiva. La reacción positiva se evidencia rápidamente al enfrentar en una lámina el suero del paciente con el antígeno de cardioplipina. En pocos momentos se produce la aglutinación de las partículas de colesterol sensibilizadas con la cardioplipina. Se puede realizar la titulación de los anticuerpos antihapteno de Wasserman, que reflejan bien la actividad de la infección en las distintas fases de la enfermedad.

El VDRL es la prueba de elección para el chequeo de grandes grupos de población en busca de casos de sífilis ignorados, para diagnóstico de la enfermedad en sospechosos y para la evolución de casos tratados. Se han introducido recientemente la prueba rápida de reagentas (RRT) en plasma para estudios poblacionales y la reacción de reagina automatizada (ART). La prueba serológica del mismo tipo en tubo, denominada de "floculación" (Kahn), que es inferior a las anteriores, sigue utilizándose en muchos laboratorios.

Reacción de fijación del complemento. La primera reacción que fue descrita para el diagnóstico de la sífilis, la clásica reacción de fijación del complemento de Wasserman, que utilizaba antígenos no definidos totalmente, ha sido sustituida por pruebas basadas en la técnica de Kolmer, con antígeno de cardioplipina. Las reacciones serológicas que utilizan antígenos de cardioplipina, sobre todo el VDRL, poseen una buena sensibilidad, pero su especificidad depende de la heterogeneidad de este antígeno, por lo que con su utilización se pueden detectar los llamados "falsos positivos biológicos" en el diagnóstico de la sífilis. En otras enfermedades como el lupus eritematoso diseminado, malaria, lepra, artritis reumatoide, tuberculosis, tumores malignos y aun en población normal, se producen reacciones falsas positivas biológicas (FPB) con el empleo del antígeno de Wasserman, aunque los títulos de anticuerpos son más altos en la sífilis que en otras enfermedades no treponémicas.

Con estas pruebas los anticuerpos se detectan de 1 a 3 semanas después que aparecen las lesiones primarias, alcanzan su máximo título durante el estadio secundario y se mantienen altos títulos o pueden desaparecer del suero.

El VDRL es positivo en alrededor del 75 % de pacientes con sífilis terciaria, aunque un test negativo no excluye la existencia de neurosífilis o de sífilis tardía del corazón. En caso de duda pueden repetirse las pruebas inespecíficas, además de utilizar otras específicas.

Pruebas serológicas específicas con antígeno treponémico

Estas pruebas utilizan como antígeno suspensiones de treponemas intactos o lisados. Empleando lisados de *T. phagedenis* biotipo Reiter, se puede realizar una prueba de fijación del complemento para demostrar la presencia de anticuerpos frente al antígeno proteico de grupo. Esta técnica no es muy específica, debido a la presencia de treponemas comensales

en el organismo humano. En este grupo de reacciones resultan de gran utilidad las que utilizan como antígeno *Treponema pallidum* (cepa Nichols) multiplicado en testículo de conejo.

Las de mayor interés son tres:

1. *Reacción de inmunofluorescencia indirecta* (FTA-5, FTA-200, FTA-ABS): el test de anticuerpos treponémicos fluorescentes absorbidos utiliza la inmunofluorescencia indirecta. El suero del paciente se diluye 1:5 a 1:200, antes de la absorción con una preparación de antígeno de treponema no patógeno (*T. phagedenis* biotipo Reiter), para remover los anticuerpos de reacción cruzada. El suero absorbido se deposita en un portaobjeto al que se ha fijado previamente una suspensión de *T. pallidum* (cepa Nichols). Después de incubada, la lámina es lavada y se le adiciona gammaglobulina antihumana marcada por un fluorocromo. La lectura se realiza en el microscopio de fluorescencia y la fluorescencia de los treponemas indica la presencia de anticuerpos en el suero del paciente. Esta prueba proporciona resultados excelentes desde el punto de vista de sensibilidad y especificidad para los anticuerpos de la sífilis, siempre y cuando el suero del paciente haya sido absorbido previamente con espiroquetas de Reiter tratadas con vibraciones sónicas. Es la primera prueba que se hace positiva en la sífilis temprana y puede mantenerse positiva muchos años después del tratamiento eficaz, por lo que no puede aplicarse para evaluarlo. Este test es positivo en casi todos los pacientes con sífilis secundaria y terciaria, aunque sólo en el 80 % de los casos de sífilis primaria. La presencia de anticuerpos treponémicos IgM en la sangre de los recién nacidos, constituye una buena comprobación de la infección *in utero* (sífilis congénita).

El test FTA-ABS 195 IgM se ha sugerido como ayuda en el diagnóstico de esta enfermedad en el recién nacido. La presencia de IgM reactiva contra *T. pallidum* en el suero de un recién nacido orienta al diagnóstico, ya que esta clase de inmunoglobulina no atraviesa la placenta, mientras que la IgG materna sí lo hace. Este test debe ser utilizado en laboratorios desarrollados. La detección de IgM fetal contra inmunógenos seleccionados de *T. pallidum* por Western-immunoblot es prometedora, pero su grado de sensibilidad no es conocido aún.

2. *Reacción de inmovilización del T. pallidum* (TPI o prueba de Nelson): esta es una prueba costosa, de ejecución muy delicada, que ya ha sido prácticamente sustituida por la FTA-ABS, a pesar de ser la más específica. Se ha considerado prueba de referencia en casos dudosos y consiste en la demostración de la inmovilización de *T. pallidum* vivos móviles por los anticuerpos específicos en el suero del paciente, después de la segunda semana de la infección. Se mezclan diluciones del suero del paciente con complemento y *T. pallidum* vivos y activamente móviles, extraídos de chancros testiculares de conejo. La reacción se lee en el microscopio de campo oscuro y se considera positiva cuando se produce la inmovilización de más del 50 % de los treponemas presentes. En suero normal, el movimiento activo continúa. Esta prueba es difícil de realizar, requiere treponemas vivos y en la actualidad rara vez se practica.
3. *Reacción de hemaglutinación pasiva* (HAP) (TPHA) y *microhemaglutinación-Treponema pallidum* (MHA-TP): estas pruebas son de reciente introducción; la MHA-TP se ha utilizado para la determinación de anticuerpos específicos antitreponémicos. Se basa en la sensibilización de hematíes formalinizados de pavo o de carnero, con un lisado de *T. pallidum*. La adición de un suero positivo provoca la aglutinación de los hematíes. Es una prueba muy sensible, pero menos específica que la FTA-ABS, es muy simple y de bajo costo, por lo que su uso se está generalizando. Esta prueba se hace positiva un poco más tarde, en la evaluación de la infección; es confirmatoria para el diagnóstico de la sífilis, con la excepción de la fase primaria de la enfermedad. Se han empleado ensayos que usan la reacción en cadena de polimerasa (PCR) para la demostración del ADN de *T. pallidum* en muestras clínicas, pero el papel del PCR en laboratorio clínico necesita aún ser determinado.

Ha sido descrito y existe en estos momentos comercialmente un test para sífilis basado en un inmunoensayo enzimático (ELISA).

Los anticuerpos antitreponémicos declinan más lentamente que los de Wasserman después del tratamiento y las pruebas serológicas positivas pueden persistir por años. Los test serológicos que permanecen positivos después de la terapéutica específica, no son suficiente evidencia de que la enfermedad continúa. Los anticuerpos de Wasserman en LCR generalmente reflejan sífilis activa del Sistema Nervioso Central.

INMUNIDAD

Si la sífilis temprana o el pian son tratados en forma adecuada y rápida, se erradica la infección y el individuo se hace completamente susceptible de nuevo. La resistencia a la reinfección empieza alrededor de 3 semanas después de la aparición de las lesiones primarias. La infección latente mantiene la resistencia. La respuesta inmunitaria no erradica la infección ni detiene su progreso; a pesar de la estimulación de la inmunidad humoral que acompaña a la infección, como los treponemas no están completamente erradicados, la enfermedad puede progresar y transitar por sus característicos estadios.

Se han transferido grandes cantidades de anticuerpos antitreponémicos a conejos no infectados antes de retarlos con *Treponema pallidum* virulentos; esto atenúa la enfermedad, pero no los protege completamente.

Se ha observado la presencia de inmunocomplejos circulantes en la sífilis, aunque se desconoce su papel patogénico. Se estima que para la adquisición de resistencia a la infección por *Treponema pallidum* son necesarios tanto los componentes humorales como los celulares. La obtención de una vacuna humana efectiva depende de la identificación de los determinantes de virulencia y de moléculas inmunoprotectoras.

TRATAMIENTO

Desde la década de los 40, la penicilina se ha mantenido como el medicamento de elección en la sífilis. Hasta el momento no aparece en la literatura reporte de resistencia del *Treponema pallidum* a este tratamiento. En caso de alergia a este medicamento pueden usarse la doxiciclina, la tetraciclina y la eritromicina, aunque estos son menos efectivos y pueden producirse fallos en el tratamiento, por lo que se recomienda, en estos casos, terapia con seguimiento estricto. En los periodos primario y secundario de la sífilis, el tratamiento debe iniciarse con altas dosis de penicilina G benzatínica de acción retardada, que mantiene concentraciones en sangre por 7 a 10 días después de cada inyección. La dosis dependerá del período de la enfermedad. En sífilis precoz se puede comenzar con 2,4 millones de unidades de penicilina G benzatínica (la llamada dosis epidemiológica) que hace desaparecer la contagiosidad y, además, existe la posibilidad de cura del 90 % de los casos, aun cuando el paciente abandone el tratamiento sin recibir dosis adicionales. La penicilina G benzatínica por vía intramuscular es el tratamiento de elección en sífilis de menos de 1 año de evolución. En sífilis más antigua, latente, se recomienda este mismo medicamento tres dosis, con intervalos semanales entre dosis. En la neurosífilis, la penicilina es menos efectiva por el daño irreparable que se produce en los tejidos. Algunos sugieren que la penicilina falla ocasionalmente en erradicar los treponemas del Sistema Nervioso Central y en otras localizaciones de la sífilis tardía. Un tratamiento útil en estos pacientes sería penicilina G sódica intravenosa en altas dosis o penicilina G procaínica intramuscular con probenecid por vía oral.

En los pacientes afectados por VIH y treponema simultáneamente, se producen recurrencias neurológicas graves aun con tratamiento. En estos casos el tratamiento debe ser más intenso y prolongado. Puede producirse la reacción de Jarisch-Herxheimer (fiebre alta, taquicardia, cianosis, etc.), horas después de iniciarse el tratamiento con penicilina, debido a la liberación de productos tóxicos por la destrucción masiva de las espiroquetas muertas.

EPIDEMIOLOGÍA, PREVENCIÓN Y CONTROL

Actualmente en todo el mundo se está produciendo un aumento notable en la frecuencia de las enfermedades de transmisión sexual; ha habido un resurgimiento de la sífilis

primaria y secundaria entre hombres y mujeres heterosexuales, lo que ha llevado también a un dramático incremento en la sífilis congénita.

La sífilis es la enfermedad de transmisión sexual de mayor trascendencia sanitaria y social en el mundo. El cambio que se ha producido en la epidemiología de esta enfermedad en los últimos años puede explicarse teniendo en cuenta determinadas situaciones y, en especial, las zonas marginales, donde el riesgo de sífilis es alto y el diagnóstico puede demorarse por el acceso limitado a los cuidados de salud. El uso de drogas, sobre todo la cocaína, está indisolublemente unido al riesgo de adquisición de esta enfermedad. La venta del sexo por drogas o por dinero también contribuye de forma notable a este riesgo, al propio tiempo que resulta muy difícil, por razones obvias, el chequeo de contactos y es común la reinfección en personas con tratamiento. No existen, hasta el momento actual, vacunas profilácticas contra esta enfermedad.

ENFERMEDADES RELACIONADAS CON LA SÍFILIS

Aunque estas afecciones son producidas por treponemas indistinguibles desde el punto de vista inmunológico y morfológico del *Treponema pallidum* de la sífilis, se diferencian claramente de esta en que no se transmiten por contacto sexual; no dan lugar a manifestaciones clínicas con diferentes estadios perfectamente diferenciables entre fases de latencia o de remisión de síntomas; no se transmiten al feto, ni afectan el SNC o el cardiovascular. Las tres especies de treponemas causantes de estas enfermedades se consideran especies diferentes de treponemas patógenos, todas se transmiten por contacto directo y las infecciones a que dan lugar se caracterizan por afectación cutáneo-mucosa. Además, producen resultados positivos en las pruebas serológicas para sífilis, tanto treponémicas como no treponémicas. Ninguna de estas especies ha podido ser cultivada.

La sífilis endémica (Bejel) de transmisión no sexual, también denominada Dichuchwa Njovera, aparece en las zonas desérticas del Oriente Medio, Arabia, Zimbabwe, Bechuanalandia y en otras partes del mundo; es producida por el *Treponema pallidum* (subespecie *endemicum*). Afecta a niños y adultos; se transmite a través de objetos contaminados; da lugar a lesiones cutáneo-mucosas y de huesos, y es altamente infecciosa. Las complicaciones viscerales tardías son raras. El medicamento de elección es la penicilina.

El pian (frambesia, buba, parangi) es una enfermedad producida por el *Treponema pallidum* (subespecie *pertenue*), endémica de muchos países tropicales y cálidos como África tropical, Laos, Kampuchea, India. Se transmite por contacto prolongado en condiciones de promiscuidad o por moscas y otros insectos que actúan como vectores. Esta espiroqueta afecta, fundamentalmente, la piel, los huesos y los tejidos blandos, produciendo lesiones gomosas con destrucción ósea de cartílagos y de partes blandas. La lesión primaria es una pápula eritematosa ulcerada (frambesia), no dolorosa, que aparece de 3 a 4 semanas después del contagio y cicatriza de 2 a 3 meses. Después de un período de latencia aparecen las lesiones secundarias, semejantes a la lesión inicial, diseminadas por todo el cuerpo, en especial en brazos y piernas; se manifiesta en forma recidivante por varios años. Lo común es que se produzcan cicatrices en las lesiones cutáneas y destrucción de huesos, pero las complicaciones vasculares y del Sistema Nervioso Central son muy raras. Algunos se plantean si el pian representa una variedad de sífilis adaptada a la transmisión no venérea. El diagnóstico y tratamiento son similares a los de la sífilis y se señala que existe inmunidad cruzada entre ambas enfermedades.

La pinta o mal de Pinto (carate, cute, lota) es una treponematosis que se observa con frecuencia en niños y jóvenes, y en forma endémica en grupos de todas las edades, afectando en forma casi exclusiva las razas de piel morena en el Caribe, América Central y del Sur, México, Filipinas y zonas del Pacífico.

La espiroqueta causal es el *Treponema carateum*, que se transmite por contacto no sexual y por artrópodos (jejenes). La lesión primaria es una pápula no ulcerada en partes expuestas de la piel, varios meses después aparecen lesiones planas hiperpigmentadas y años después se produce despigmentación (manchas hipocrómicas) e hiperqueratosis de las zonas de la piel afectadas en manos, piel y cabeza. Solamente en muy raros casos se pueden producir lesiones tardías cardiovasculares o del sistema nervioso. Tanto el diagnóstico como el tratamiento son similares a los de la sífilis.

SÍFILIS DEL CONEJO

El *Treponema cuniculi* produce una infección venérea de los conejos. Este microorganismo es, desde el punto de vista de la morfología, indistinguible de *T. pallidum* y las lesiones que provoca en los órganos genitales del animal no son de mucha importancia, pero pueden dar lugar a confusiones durante la realización de trabajos experimentales.

BORRELIA

Los microorganismos pertenecientes al género *Borrelia* son espiroquetas transmitidas por artrópodos que causan las fiebres recurrentes y la enfermedad de Lyme.

Hasta el momento, el único criterio utilizable para la clasificación de estos microorganismos es la especificidad de los artrópodos vectores. Cada borrelia aislada de una garrapata constituye una especie, conocida con el nombre del artrópodo del que se aísla. Al no cultivarse fácilmente se carece de estudios metabólicos y antigénicos comparativos entre las diferentes especies, lo que permitiría una clasificación sobre bases taxonómicas firmes. La especie tipo es *Borrelia anserina*.

Desde el punto de vista práctico, las borrelias patógenas del hombre se clasifican en:

1. *Borrelia* transmitida por piojos (*Pediculus humanus*), agente causal de la fiebre recurrente epidémica o cosmopolita.
2. *Borrelia* transmitida por garrapatas del género *Ornithodoros*, agente causal de la fiebre recurrente endémica.
3. *Borrelia* transmitida por garrapatas del género *Ixodes*, agente causal de la enfermedad de Lyme.

Su localización geográfica depende del artrópodo vector (Cuadro 37.2).

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Son los organismos espirales de mayor diámetro, 5 a 30 μm de longitud por 0,5 μm de diámetro, que poseen de 5 a 10 espirales irregulares y amplias (la separación entre espiras es de 1 a 4 μm), cuyos extremos son afilados. Son muy móviles, poseen de 15 a 20 flagelos o fibrillas axiales que rodean el cilindro protoplasmático; los movimientos son tanto por rotación como por flexión. Pueden ser observadas con el microscopio ordinario y se colorean por los colorantes de anilina, así como con tinciones para sangre por Gram, Giemsa y Wright; se comportan como gramnegativas.

Cultivo. Se adaptan con dificultad al cultivo en medios sintéticos complejos. Son anaerobias estrictas o microaerófilas. Tienen un metabolismo fermentativo. Pueden ser cultivadas en medios líquidos con sangre, suero o tejidos. Pierden su patogenicidad cuando se subcultivan varias veces *in vitro*.

Algunas cepas se han cultivado en la membrana carioalantoidea de embrión de pollo; pueden ser mantenidas por subcultivos sucesivos en el artrópodo vector y ser propagadas en ratones jóvenes y ratas. Tienen un tiempo de generación de 18 horas.

Características del crecimiento. Debido a su difícil propagación en medios de cultivo, no se conocen con certeza los requerimientos metabólicos de estos microorganismos. *Borrelia* puede mantenerse a 4 °C en sangre o en cultivos por varios meses. En las garrapatas, estos agentes se transmiten por vía transovárica.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA Y VARIACIÓN

Borrelia muestra variación en su estructura antigénica, que es similar a la de otras espiroquetas. Son heterogéneas en cuanto a morfología, proteínas, plásmidos y homología del ADN de una cepa a otra, pero aún no se ha desarrollado un sistema definido de clasificación. La característica principal del cuadro clínico de la fiebre recurrente es que se desarrollan períodos febriles con tendencia a recurrir en intervalos de tiempo regulares. El mecanismo de

Cuadro 37.2. Características y distribución de borrelias transmitidas por piojos o por garrapatas*

Especies	Vector artrópodo	Reservorio animal	Distribución	Enfermedad
<i>H. recurrentis</i> (sin. <i>obermeyeri</i> , <i>B. novyi</i>) <i>B. duttonii</i>	<i>Pediculus humanus</i> (piojos)	Humanos	Mundial	Fiebre recurrente epidémica
<i>B. hipanica</i>	<i>Omithodorus moubata</i>	Humanos	África central, este y sur	Fiebre recurrente endémica de África del Este
<i>B. crocidurae</i> <i>B. merionesi</i> <i>B. microti</i> <i>B. dipodilli</i> <i>B. persica</i>	<i>O. erraticus</i> (gran variedad)	Roedores	España, Portugal, Marruecos, Argelia, Tunisia	Fiebre recurrente por garrapatas hispano-africana
<i>B. crocidurae</i> <i>B. merionesi</i> <i>B. microti</i> <i>B. dipodilli</i> <i>B. persica</i>	<i>O. erraticus</i> (poca variedad)	Roedores	Marruecos, Libia, Egipto, Irán, Turquía, Senegal, Kenya	Fiebre recurrente por garrapata de África del norte
<i>B. caucasica</i>	<i>O. tholozani</i> (sin. <i>O. pillipes</i> , <i>O. crossi</i> ?)	Roedores	Del oeste de China y Kashmir a Iraq y Egipto; del este de Europa a través del norte de Asia, India	Fiebre recurrente por garrapata asiático-africana
<i>B. latyschewii</i>	<i>O. verrucosus</i>	Roedores	Del Cáucaso a Iraq	Fiebre recurrente por garrapata caucásica
<i>B. hermsii</i>	<i>O. tartakowskyi</i>	Roedores	Irán, Asia central	Fiebre recurrente por garrapata caucásica
<i>B. hermsii</i>	<i>O. hermsi</i>	Roedores, ardillas, ardillas listadas	Oeste Estados Unidos	Fiebre recurrente por garrapata americana
<i>B. turicatae</i>	<i>O. turicata</i>	Roedores	Suroeste Estados Unidos	Fiebre recurrente por garrapata americana
<i>B. parkeri</i>	<i>O. parkeri</i>	Roedores	Oeste Estados Unidos	Fiebre recurrente por garrapata americana
<i>B. mazzottii</i>	<i>O. talaje</i> (<i>O. dugesi</i> ?)	Roedores	Sur Estados Unidos, México, América Central y del Sur	Fiebre recurrente por garrapata americana
<i>B. venezuelensis</i>	<i>O. rudis</i> (sin. <i>O. venezuelensis</i>)	Roedores	América Central y del Sur	Fiebre recurrente por garrapata americana
<i>B. anserina</i> <i>B. theileri</i>	<i>Argas</i> spp. (mites?) <i>Rhipicephalus</i> spp., probablemente otras garrapatas <i>Ixodes</i> <i>Ixodes dammini</i>	Aves de corral Ganado vacuno, caballos, ovejas	Mundial Suráfrica, Australia, América del Norte, Europa	Borreliosis aviar Espiروquetosis por garrapatas
<i>B. burgdorferi</i>	<i>Ixodes dammini</i>	Roedores	Este y medio oeste de los Estados Unidos	Enfermedad de Lyme
	<i>I. pacificus</i>	Roedores	Oeste Estados Unidos	Enfermedad de Lyme
	<i>I. ricinus</i>	Roedores	Europa	Enfermedad de Lyme
	<i>I. persulcatus</i>	Roedores	Países asiáticos	
	?	?	Australia	Enfermedad de Lyme
<i>B. brasiliensis</i>	<i>O. brasiliensis</i>	?	América del Sur (Brasil)	?
<i>B. graingeri</i>	<i>O. graingeri</i>	?	África del este (Kenya)	Un caso de laboratorio+
<i>B. tillae</i>	<i>O. zumpti</i>	Roedores	Suráfrica	?+
<i>B. queenslandica</i>	<i>O. gurneyi</i>	Roedores	Australia	?+
<i>B. armenica</i>	<i>O. alactagalis</i>	Roedores	Armenia	?+

* De B. Burgdorfer W. *Borrelia*. En: Balows *et al.* (ed.). Manual de Microbiología Clínica. 5ta ed. Washington D.C.: Sociedad Americana de Microbiología, 1991.

+ Asociación espiروqueta-garrapata de desconocida o poca importancia para la salud humana.

estas recurrencias secuenciales es peculiar en cada una de estas; las borrelias aisladas muestran diferencias antigénicas y dan lugar a la producción de anticuerpos circulantes específicos. Esto origina un fenómeno único de variabilidad antigénica, que parece ser un mecanismo de evasión de la respuesta inmune. Es muy probable que su estructura antigénica cambie durante el desarrollo de una misma infección. Los anticuerpos, sobre todo los aglutinantes contra el organismo causante de la infección, hacen que sólo sobrevivan las variantes antigénicas diferentes (mutantes). La producción de la siguiente recurrencia dependerá de la multiplicación de estas variantes, con el desarrollo de una recaída de la enfermedad. El hospedero debe desarrollar nuevos anticuerpos contra estas nuevas variantes. Se produce su desaparición del torrente circulatorio, apareciendo nuevas variantes de la cepa que originó el cuadro clínico. De esta forma se producen varias recurrencias y remisiones de la infección. En la recuperación del paciente, después de 3 a 10 de estos episodios, en la sangre se encuentran anticuerpos contra múltiples variantes antigénicas. Después de la

infección aparecen títulos elevados de aglutininas, anticuerpos fijadores del complemento y líticos.

La rapidez y regularidad de las recurrencias sucesivas en esta enfermedad implica que el rango de las mutaciones que comprende es alto y que existe una secuencia limitada y reproducible de variación antigénica. Los responsables de estas alteraciones o cambios definidos son los reordenamientos del ADN que afectan las proteínas variables mayores. Debido a que estos organismos no se pueden desarrollar con facilidad en diferentes medios, poco se sabe sobre sus requerimientos metabólicos y de otra índole; es por ello que no se han dado diferentes nombres de especies de *B. recurrentis*. Estos organismos tienen relaciones antigénicas cruzadas con *Treponema* y todas las cepas aisladas presentan antígenos proteicos comunes al género (grupo específico).

PATOGENIA

La naturaleza cíclica de la fiebre recurrente se ha atribuido a la variabilidad antigénica de *B. recurrentis* en la evolución de esta enfermedad. Esta parece ser una propiedad inherente a la espiroqueta, que se produce en ausencia de anticuerpos; aunque sean estos los que seleccionen dichas variantes.

La *Borrelia burgdorferi* y otras *Borrelia* spp. no se conocen como productoras de toxinas; aunque existen evidencias de la presencia de endotoxinas circulantes durante los picos febriles de la fiebre recurrente sintomática producida por *B. recurrentis*. Se piensa que los hallazgos patológicos asociados a la enfermedad de Lyme sean debidos a la liberación de citoquinas por *B. burgdorferi* en el curso de la enfermedad. Los cultivos repetidos de esta espiroqueta dan lugar a la pérdida de la patogenicidad, como se evidencia por su incapacidad de infectar hámsters y ratones. La persistencia de *B. burgdorferi* en la enfermedad de Lyme no parece dependiente de variación antigénica.

PATOLOGÍA Y DATOS CLÍNICOS

La fiebre recurrente epidémica es una enfermedad zoonótica, que se adquiere por la picadura de un vector, el *Pediculus humanus (capitis o corporis)* que inocula *B. recurrentis* a través de su picadura. La fiebre recurrente endémica es transmitida por picadura de garrapatas del género *Ornithodoros*.

La fiebre recurrente epidémica es, generalmente, más grave. La enfermedad endémica es menos severa, sobre todo en autóctonos. A pesar de esto, ambos tipos de enfermedades tienen el mismo cuadro clínico general. Posee un período de incubación de 7 a 10 días después de la picadura del artrópodo vector, comienza de forma brusca con fiebre, escalofríos, cefalea, mialgias y artralgias, náuseas y a veces vómitos, con abundantes espiroquetas en sangre y en orina, las que son raras en el líquido cefalorraquídeo. Estos síntomas persisten de 3 a 5 días y declinan en unos 10 días, dejando al paciente debilitado, pero no enfermo. Después se produce un período afebril, que dura de 5 a 10 días, en el que las borrelias están ausentes, el cual es seguido de un segundo ataque de fiebre, escalofríos, cefalea intensa y malestar general. Se producen de 3 a 10 de tales recidivas (recurrencias) de intensidad decreciente. Durante los períodos febriles, en los que las espiroquetas se encuentran en la sangre, se activa el sistema inmune, se producen anticuerpos que destruyen las bacterias seguido de la etapa de remisión del cuadro clínico. Algunas borrelias mutantes no afectadas por los anticuerpos, comienzan a multiplicarse abundantemente y dan lugar a otra bacteriemia, con otro ataque febril; se activa de nuevo el sistema inmune y la producción de anticuerpos contra los nuevos antígenos; de esta forma se presentan las recurrencias y recaídas que caracterizan este padecimiento.

Existen formas de fiebre recurrente que no se diagnostican, porque semejan otras enfermedades febriles. Los casos fatales se producen en menos del 5 % en la enfermedad endémica y pueden exceder del 50 % en epidemias severas transmitidas por piojos, debido, posiblemente, a un incremento en la adaptación al hospedero humano en la transmisión de persona a persona. En casos fatales se produce miocarditis; se hallan grandes cantidades de estos

organismos en bazo e hígado; hay focos necróticos en órganos parenquimatosos y lesiones hemorrágicas en el riñón y en el aparato digestivo, así como en el líquido cefalorraquídeo y cerebro de personas que han padecido meningitis. Se ha reportado en esta enfermedad transmisión transplacentaria.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

La identificación de *Borrelia recurrentis* debe basarse en la distribución geográfica de la enfermedad y en el artrópodo vector; por ejemplo, si la fiebre recurrente se contrae en un área geográfica donde la garrapata *Ornithodoros hermsi* está presente, la espiroqueta aislada será identificada como *Borrelia hermsii*. Todas las fiebres recurrentes por piojos son causadas por *B. recurrentis*.

Muestras. Muestras de sangre para frotis en los períodos de pico febril e inoculación animal.

Examen directo. Los frotis de sangre gruesos y delgados, teñidos con los colorantes de Giemsa o Wright, examinados con microscopio de campo claro, permiten observar grandes espiroquetas de espiras muy separadas entre los hematíes. Los frotis delgados son utilizados para el diagnóstico inicial, cuando se encuentran pocas espiroquetas en sangre. La fiebre recurrente ha sido diagnosticada por técnicos de laboratorio, durante conteos diferenciales de la sangre.

Inoculación animal. Se realiza inoculación de los materiales obtenidos del paciente a ratones blancos recién nacidos y ratas jóvenes, por vía intramuscular o intraperitoneal. La sangre obtenida de la cola del animal se examina diariamente en busca de las espiroquetas características, por lo menos durante 15 días.

Pruebas serológicas. La inmunofluorescencia indirecta (IFA) y ELISA con los tests más comúnmente usados para el diagnóstico serológico de la fiebre recurrente.

Las espiroquetas que han crecido en cultivos sirven como antígenos para reacciones de fijación del complemento. La preparación de estos antígenos es difícil. El suero de pacientes que padecen fiebre recurrente (transmitida por piojos) puede determinar positividad en el VDRL y en el test FTA-ABS para sífilis.

La interpretación de los resultados serológicos debe hacerse con precaución; la presencia de anticuerpos contra *Borrelia* indica que ocurrió una infección por espiroquetas y no necesariamente la existencia de infección activa. Por otro lado, un resultado serológico negativo no siempre indica ausencia de infección.

Una respuesta insuficiente de anticuerpos o la supresión o aborto de esta por un tratamiento temprano durante la infección, puede dar un resultado negativo.

INMUNIDAD

Después de la infección, la inmunidad que sigue es de corta duración.

TRATAMIENTO

La tetraciclina es el medicamento de elección en la fiebre recurrente. En niños menores de 7 años y en embarazadas se puede utilizar la eritromicina. Pueden usarse, además, la penicilina y la estreptomycin. Cuando el tratamiento se hace en la enfermedad temprana, se acorta su evolución; si se inicia después de 4 días, no se modifica su evolución. Puede producirse la reacción de Jarisch-Herxheimer en muchos pacientes con fiebre recurrente epidémica y en algunos con fiebre recurrente endémica. Esta consiste en fiebre y escalofríos que aparecen en forma brusca después del tratamiento, cefalea, toma del estado general, náuseas y vómitos; los pacientes se controlan con hidratación y cuidados intensivos de enfermería al primer día del tratamiento.

EPIDEMIOLOGÍA, PROFILAXIS Y CONTROL

La fiebre recurrente es una enfermedad zoonótica de distribución mundial, mucho más frecuente de lo que se piensa, en la que los roedores (ratas, ratones, ardillas y conejos), constituyen la fuente de infección de los artrópodos vectores (garrapatas y piojos). Se encuentra distribuida en forma endémica en varias regiones. Muchas de estas infecciones evolucionan de forma asintomática o con cuadro clínico no patognomónico y no son diagnosticadas.

En la fiebre recurrente endémica (por garrapatas blandas del género *Ornithodoros*), el cuadro clínico es menos severo y la mortalidad baja, salvo en las epidemias, en que puede elevarse hasta un 30 %. Las garrapatas del género *Ornithodoros* viven en el suelo, en las cuevas de ratones y en cuevas de árboles viejos; tienen hábitos nocturnos y se infectan al chupar la sangre de roedores y conejos infectados; las borrelias se distribuyen por todo el cuerpo del artrópodo y pueden ser transmitidas de generación en generación por vía transovárica. Estas pueden transmitir las espiroquetas al hospedero por la saliva o en el líquido coxal; tanto por la herida de una picadura como por aplastamiento. En zonas endémicas puede ocurrir, además, por contacto directo con la sangre o tejidos de roedores infectados.

En el caso de la fiebre recurrente epidémica, los piojos (*Pediculus humanus humanus*) se infectan al chupar la sangre de individuos enfermos; las espiroquetas, al principio, están limitadas a la hemolinfa del piojo, es por esto que la transmisión de la enfermedad se produce por la contaminación de la herida de la picadura con la hemolinfa infecciosa, por piojos aplastados o por lesiones de rascado. La infección en el piojo no es transmitida de generación a generación.

Las epidemias de fiebre recurrente transmitida por piojos son severas; la enfermedad tiene una evolución más grave que en la endémica y la mortalidad es muy elevada. Estas epidemias son favorecidas por el hacinamiento, la desnutrición y el clima frío.

La profilaxis dependerá, en gran medida, del cambio en las condiciones de vida de la población en general (hacinamiento, desnutrición, educación sanitaria) y, en especial, evitar el contacto con vectores y emplear medidas higiénicas (despiojamiento, uso de insecticidas). En la actualidad no se cuenta con vacunas.

BORRELIA BURGdorFERI Y ENFERMEDAD DE LYME

La enfermedad de Lyme se conocía en Europa desde principios del siglo xx como eritema migratorio crónico, cuyo agente etiológico era desconocido. Recibe con posterioridad el nombre de enfermedad de Lyme o artritis de Lyme, por el poblado de Lyme, Connecticut, en Estados Unidos, donde ocurrió por los años 70 un brote epidémico de un proceso patológico sistémico (que se individualizó como entidad nosológica hacia 1975), caracterizado por manifestaciones cutáneas, nerviosas, cardíacas y articulares. El agente etiológico se aísla en los años 80; una espiroqueta denominada *Borrelia burgdorferi*, transmitida por garrapatas pequeñas del género *Ixodes*.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. *Borrelia burgdorferi* es una espiroqueta que mide de 1 a 39 μm de largo por 0,3 μm de ancho; con una distancia entre espiras de 2 a 4 μm . Estos organismos poseen de 7 a 11 endoflagelos y son muy móviles. Se tiñen con colorantes de anilina y por impregnación argéntica.

Cultivo y características del crecimiento. Este microorganismo se ha aislado de sangre, LCR y lesiones de piel. El cultivo es difícil y requiere de medios complejos. Se logra aislar espiroquetas a partir de garrapatas de seres humanos.

Las propiedades biológicas de *B. burgdorferi* cambian por subcultivos seriados, y se vuelven menos virulentas para los animales. Son microaerófilas y crecen mejor de 30 a 35 °C en 7 a 14 días; a veces se necesitan más de 6 semanas para evidenciarlas.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA Y VARIACIONES

Esta espiroqueta tiene una estructura similar a la de las otras patógenas. Es heterogénea en cuanto a su morfología, proteínas, plásmidos y homología del ADN, entre cepas. Aún no se ha desarrollado un sistema de clasificación que se adapte a estas características.

PATOLOGÍA Y DATOS CLÍNICOS

La enfermedad de Lyme es una zoonosis en la que los roedores actúan como reservorios primarios y los ciervos son los hospederos preferidos; la mayoría de los casos se producen en áreas donde existen ciervos. La transmisión de la *B. burgdorferi* se realiza por garrapatas duras del género *Ixodes*. La garrapata realiza esta transmisión cuando se está alimentando, vía saliva o por regurgitación del contenido del intestino medio; estas son comedoras lentas y requieren varios días para llenarse totalmente, por lo que necesitan fijarse a la piel durante 24 horas o más, para que se produzca la transmisión. En el sitio de la picadura, *B. burgdorferi* se adhiere a proteoglicanos de las células del hospedero, lo que es mediado por un receptor glucosaminoglicano de *Borrelia*; esta migra del sitio de la inoculación y se produce la lesión cutánea primaria de esta enfermedad. Los microorganismos se diseminan a otros sitios en piel y músculos, así como a otros órganos por vía linfática o sanguínea.

Esta enfermedad evoluciona con varios estadios clínicos con etapas tempranas y tardías. En muchos pacientes pasa inadvertida, sin síntomas. De 1 a 4 semanas después de la exposición a la garrapata, el paciente desarrolla el eritema crónico migratorio (lesión primaria), con un área crónica enrojecida cerca del sitio de la picadura, la que lentamente se expande y se aclara la porción central. El paciente, a su vez, desarrolla un cuadro clínico que puede ser severo o leve, con fiebre, escalofríos, cefalea, mialgias y artralgias. Estos constituyen la manifestación primaria de la enfermedad de Lyme. Si las lesiones de piel se multiplican y se acompañan de síntomas y signos de mayor intensidad, se considera que el paciente tiene una enfermedad temprana de Lyme diseminada.

En individuos no tratados, un 15 % desarrolla en semanas o meses, la segunda etapa de la enfermedad, que incluye: artralgia, artritis, manifestaciones del Sistema Nervioso Central con meningitis, parálisis facial y radiculopatía dolorosa; un 8 % desarrolla, además, carditis, con bloqueo atrioventricular fluctuante, de corta duración y miopericarditis.

La tercera etapa se caracteriza por comenzar meses o años después, con afectación crónica de la piel, sistema nervioso y articulaciones, lo que se observa en el 60 % de los pacientes no tratados. Estos desarrollan, por lo menos, un episodio de artritis, caracterizado por dolores intermitentes y asimétricos que afectan grandes articulaciones, especialmente la rodilla. En un 10 % el compromiso articular se hace crónico, llegando a erosión del cartilago con daño permanente de la articulación. Otras manifestaciones tardías incluyen la acrodermatitis, una lesión crónica de la piel. Es probable que algunas manifestaciones tardías de la enfermedad de Lyme sean producidas por el depósito de inmunocomplejos. Esta enfermedad raramente es fatal y con frecuencia no se diagnostica.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO

Clinicamente, la enfermedad de Lyme se sospecha por la lesión cutánea característica única, el eritema migratorio crónico. Si no está presente, la enfermedad debe diferenciarse de muchas otras, en especial las reumáticas y las neurológicas, por lo que deberán realizarse pruebas diagnósticas de laboratorio. No existe ninguna prueba sensible y específica que pueda utilizarse con este fin.

Muestras. En la primera semana de la enfermedad, *B. burgdorferi* puede aislarse de la sangre y de lesiones de piel (eritema migrans). Más tardíamente, estos organismos pueden encontrarse en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con meningitis y en el líquido sinovial si aparece artritis. La sangre se emplea para pruebas serológicas. Las muestras pueden utilizarse para detectar ADN de *B. burgdorferi* por la reacción en cadena de polimerasa (PCR).

Examen directo. Debido a la poca cantidad de microorganismos presentes en las muestras, el examen directo no es de seguridad. El ADN y los antígenos de *B. burgdorferi* pueden detectarse en orina y cortes de tejido, con el uso de anticuerpos y métodos inmunohistoquímicos.

Cultivo. Estos microorganismos pueden ser cultivados en el medio modificado de Barbour-Stoenner-Kelly (BSK), con suero de conejo, albúmina bovina fracción V, ciprofloxacina y rifampicina. Se desarrollan bien a temperaturas de 30 a 35 °C y el crecimiento puede aparecer de 7 a 14 días, después de inoculado.

Sondas moleculares. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se ha aplicado para la búsqueda de *B. burgdorferi* en líquidos corporales. Este método es sensible y específico, pero no diferencia entre ADN de los organismos vivos en la enfermedad activa y de los muertos en la enfermedad inactiva o tratada.

Pruebas serológicas. Las pruebas serológicas en la enfermedad de Lyme sólo deben realizarse cuando clínicamente se sospeche este diagnóstico, debido a que la incidencia de esta enfermedad es baja. Una seropositividad puede ser mal interpretada en ausencia de un cuadro clínico sugestivo.

Los métodos inmunológicos constituyen las herramientas diagnósticas disponibles para el diagnóstico de la enfermedad de Lyme. La inmunofluorescencia indirecta (IFA) y el análisis inmunoenzimático (ELISA) son los más utilizados. El análisis de inmunoblot (Western Blot) se utiliza para confirmar otras técnicas serológicas. Antígenos de *B. burgdorferi* se separan electroforéticamente en membrana de nitrocelulosa y se enfrentan con el suero del paciente. La interpretación de los resultados se basa en el número y tamaño molecular de reacciones entre anticuerpos y proteínas de *B. burgdorferi*.

INMUNIDAD

De 3 a 6 semanas después de iniciada la enfermedad, los anticuerpos IgM alcanzan su máximo título; estos están dirigidos contra una proteína flagelar de *B. burgdorferi*. Los anticuerpos IgG que parecen estar dirigidos en forma secuencial contra proteínas de *B. burgdorferi*, aumentan a través de meses o años en forma lenta. Los pacientes tratados tempranamente no desarrollan inmunidad protectora.

TRATAMIENTO

El tratamiento de la enfermedad de Lyme con tetraciclina o penicilina puede interrumpir o mejorar el cuadro inicial de esta enfermedad. En las manifestaciones tardías (el estadio crónico) se requiere tratamiento intensivo. La doxiciclina oral, la amoxicilina o cefuroxima, se pueden usar en la enfermedad temprana. En niños de menos de 9 años y embarazadas, la doxiciclina está contraindicada.

La amoxicilina se recomienda en la forma temprana de la enfermedad y la penicilina G en la diseminada o en la tardía. La terapia antibiótica debe administrarse por vía intravenosa en embarazadas, excepto las que presentan síntomas de la enfermedad diseminada o tengan una sola lesión de eritema migrans. La enfermedad de Lyme neurológica o la diseminada se tratan con ceftriaxona por vía endovenosa.

EPIDEMIOLOGÍA, PREVENCIÓN Y CONTROL

La enfermedad de Lyme es una causa importante de morbilidad en áreas endémicas, como el noreste, oeste medio y oeste de los EE. UU., y en otras áreas geográficas donde animales de vida libre son hospederos de las garrapatas *Ixodes*. En la costa occidental de EE. UU., el vector es *Ixodes pacificus* y en el noreste y oeste medio, *Ixodes dammini*; *Ixodes ricinus* es el vector en Europa. El principal reservorio animal de *B. burgdorferi* para las garrapatas son los ratones y ciervos, pudiendo ser transmitidas también por aves y otros animales.

El hombre tiene más probabilidad de ser picado por garrapatas en los meses de mayo a julio, cuando la garrapata está en su etapa de ninfa, aunque en otras etapas de su ciclo, la de

larva (agosto a septiembre) y la adulta (primavera y otoño), pueden alimentarse de humanos y transmitir la borrelia. No se dispone de vacunas, se previene la enfermedad evitando la exposición a picadura de estos artrópodos.

LEPTOSPIRA

La familia *Leptospiraceae*, del orden Spirochaetales, comprende el género *Leptospira* con dos especies: *L. interrogans* (patógena, cepa tipo ATCC 23581) y *L. biflexa* (de vida libre, cepa tipo ATCC 23582). Una tercera especie, *L. illini* (no patógena, cepa tipo NCTC 11301) aislada de buey en Illinois, tiene una ubicación taxonómica incierta (especie *incertae sedis*).

MARCADORES GENÉTICOS

Cuadro 37.3. Características diferenciales de las especies de *Leptospira*

	Leptospira interrogans	Leptospira biflexa	Leptospira illini * (<i>Lincertae sedis</i>)
Patogenicidad	Sí	No	No
Crecimiento a 13 °C	No	Sí	Sí
Inhibición del crecimiento por 8-azoguanina (225 µg/mL)	Sí	No	No
Conversión de las células a formas esféricas por NaCl 1 M	Sí	No	No
Actividad lipasa	?	Sí	Sí
% de G-C que hay en el ADN	35,3-39,9	38,0-41,0	53
Crecimiento en caldo soya-tripticasa	No	No	Sí
Túbulos citoplasmáticos	No	No	Sí

* En la 8va edición del *Manual Bergey* fue denominado como género *Leptonema*, pero cambió a especie *incertae sedis*.

SEROVAR, SEROVARIANTE O SEROTIPO

Es la unidad taxonómica básica en uso, representada actualmente por una cepa de referencia. Es la base para la clasificación de los aislamientos, lo que está dado por diferencias serológicas reveladas por reacciones de aglutinación y absorción de aglutininas con sueros preparados en conejos. Puesto que las leptospiros son semejantes morfológica y culturalmente, la clasificación de los aislamientos depende de las características serológicas de estos, sobre la base de aglutinación microscópica con antisueros específicos de cada serovar.

Serogrupo. Es la agrupación de serovares según sus principales afinidades antigénicas reveladas en la prueba de aglutinación cruzada. Los serovares con aglutinógenos comunes se han reunido en serogrupos por conveniencia. El serogrupo no es una subdivisión taxonómica, sólo tiene valor práctico en la selección de antígenos para preparación de antisueros para el estudio de aislamientos. El antisuero que muestre el grado más alto de reacción cruzada en cada serogrupo se emplea para representarlo y para estudiar un cultivo desconocido.

Una vez que se ha establecido el serogrupo, el aislamiento en estudio es enfrentado con un antisuero de cada uno de los serovares conocidos del grupo para seleccionar los que están más estrechamente relacionados. Estos antisueros específicos de cada serovar son comparados con el aislamiento en estudio, mediante pruebas cruzadas de aglutinación-absorción para su identificación definitiva (Cuadro 37.4.).

Serogrupos patógenos

(*L. interrogans*)
23 serogrupos
Más de 220 serovares

Serogrupos no patógenos

(*L. biflexa*)
38 serogrupos
60 serovares

Cuadro 37.4. Serogrupos y serovares de las leptospiros más frecuentes

Serogrupos	Serovares	Cepas de referencia	Reservorio principal
<i>Icteroemorrhagiae</i>	<i>icterohemorrhagiae</i> <i>copenhageni</i>	RGA Wijnberg	Ratas (<i>Epyomis</i>), otros roedores, perros, cerdos, ganado
<i>Canicola</i>	<i>canicola</i>	Hond UtrechtIV	Perros, cerdos
<i>Ballum</i>	<i>ballum</i>	S 102	Roedores (<i>Epyomis</i> , <i>Apodemus</i>)
<i>Gryppotyphosa</i>	<i>gryppotyphosa</i>	Moskva V	Roedores (<i>Microtus</i>), bóvidos
<i>Pomona</i>	<i>pomona</i>	<i>Pomona</i>	
<i>Tarassovi</i>	<i>tarassovi</i>	<i>Mitis</i> Johnson	Cerdo
<i>Hebdomadis</i>	<i>hebdomadis</i>	<i>Hebdomadis</i>	Roedores (<i>Mus</i> , <i>Apodemus</i> , <i>Microtus</i>)
<i>Sejroe</i>	<i>sejroc</i> <i>hardjo</i>	M24 Hardjoprajitno	bóvidos
<i>Australis</i>	<i>australis</i> <i>bratislava</i>	<i>Ballico</i> Jez Bratislava	Ratas (<i>Epyomis</i>), cerdos
<i>Autumnalis</i>	<i>autumnalis</i> <i>fort-bragg</i>	Akiyami A <i>Fort-Bragg</i>	Roedores (<i>Apodemus</i> , <i>Microtus</i>)

Tomado de: Pumarola A. Leptospira. En: Pumarola A et al. Microbiología y Parasitología. Cap. 49. España, 1994:544-50.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Los miembros de este género son espiroquetas aerobias, flexibles, muy finas, helicoidalmente enrolladas, de 5 a 20 µm de largo por 0,1 a 0,2 µm de ancho, con ambos extremos semicirculares en forma de gancho, aunque a veces uno de los extremos está doblado y el otro se mantiene recto o ambos son rectos. Poseen un movimiento activo y flexuoso de rotación, que se produce en ausencia de flagelos externos y depende de dos flagelos periplásmicos (filamento axial), que están insertados en ambos extremos de la bacteria. Estos agentes son tan finos que pueden pasar filtros que retienen otras bacterias (0,1-0,45 µm).

Las leptospiros sólo pueden ser visibles por microscopia de campo oscuro o por microscopia de contraste de fase, pero no por microscopia de luz de campo brillante. No se tiñen con facilidad con los colorantes de anilina aunque son gramnegativas; mas pueden impregnarse por plata (Fontana-Tribondeau, Levaditi), por fluoresceína, peroxidasa conjugada más reactivos coloreados o por hibridización del ADN con reactivos coloreados biotina-avidina (DAB).

En medios de cultivo líquidos, el movimiento de las leptospiros es de rotación rápida sobre su eje longitudinal. En medios semisólidos, el movimiento es en serpentina u horadación y en medios sólidos reptan por la superficie.

Al microscopio electrónico se observa que están constituidas por: una membrana externa o envoltura (lípidos, proteínas, LPS) que rodea la pared celular de peptidoglucano; dos flagelos periplásmicos (filamentos axiales) situados entre la membrana externa y la pared celular fijos en ambos extremos de la bacteria, cuyos extremos libres se extienden hacia la parte media y no se superponen; un cilindro protoplasmático de forma helicoidal con el contenido celular (material nuclear, ribosomas, mesosomas y cuerpos de inclusión). Los cuerpos basales flagelares semejan los de las bacterias gramnegativas, con la excepción de *L. illini*, una especie de ubicación incierta (*incertae sedis*), los cuales son similares a los de las bacterias grampositivas. La denominación de esta especie está basada en que el cuerpo basal del flagelo periplásmico es similar a los de las bacterias grampositivas y a que poseen un mechón de túbulos citoplásmicos, presentes en *Treponema* pero no en *Borrelia*.

Cultivo. Las leptospiras crecen en condiciones aerobias a temperatura ambiente al abrigo de la luz o entre 28 y 30 °C, en medios de cultivo especiales enriquecidos con 8 a 10 % de suero estéril de animal (preferiblemente de conejo) o componentes del suero (albúmina bovina fracción V). Estos medios pueden ser líquidos (Korthof, Stuart, Ellinghausen y Mc Cullough, Johnson y Harris EMJH), semisólidos (Fletcher) o sólidos (Cox), así como medios libres de proteínas (Shemberg). El crecimiento en medios líquidos se expresa por una turbidez característica; en medios semisólidos, por un disco blanco lineal por debajo de la superficie del medio; y en medios sólidos, por la presencia de colonias translúcidas de 1 a 3 mm de diámetro, transparentes, con bordes enteros o irregulares por debajo de la superficie del medio, que pueden aparecer en pocos días o en varias semanas de incubación a 30 °C; lo usual es de 7 a 14 días. En cultivos líquidos viejos pueden aparecer flóculos granulares en el fondo de los tubos. Su tiempo de generación se ha determinado entre 7 y 18 horas. Estos microorganismos también pueden crecer en la membrana corioalantoidea del embrión de pollo. El crecimiento en medios sólidos aumenta con la presencia de filtrados de cultivo de estafilococos o dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD), fenómeno que se conoce como *satelitismo*.

Requerimientos para el crecimiento. Estos agentes utilizan los ácidos grasos de cadena larga (Tween) como fuente de carbono y las sales de amonio como fuente de aminoácidos. Las vitaminas B₁₂ y tiamina estimulan el crecimiento, además, necesitan fósforo y algunos iones metálicos. Las leptospiras no incorporan bases de pirimidina exógenas en sus ácidos nucleicos; esta característica sirve de base para la incorporación del 5-fluoruracilo (un análogo de la pirimidina) en medios selectivos para su aislamiento. La neomicina puede utilizarse en medios selectivos, aunque debe ser considerada su concentración adecuada. Para diferenciar leptospiras patógenas de saprofitas por su crecimiento se puede usar un medio de cultivo diferencial, que se logra incorporando 225 µg/mL de 8-azoguanina. Las leptospiras no patógenas crecen bien, en cambio el crecimiento de las patógenas cesa después de 1 a 2 generaciones.

Reacción a agentes físicos y químicos. La susceptibilidad de las leptospiras debe ser considerada cuando se van a coleccionar y manejar muestras para examen de laboratorio. En general son muy frágiles *in vitro* y son destruidas por la sequedad, la sequedad con congelación, el calor, los ácidos, los desinfectantes y la contaminación bacteriana. Pueden sobrevivir semanas en agua con pH alcalino, por varios días hasta semanas en tejidos no contaminados guardados a 4 °C; en sangre no coagulada y desfibrinada mantenida a temperatura ambiente (20 a 25 °C) sobreviven durante semanas. En orina ácida son destruidas en pocas horas. Con la congelación rápida y a -70 °C pueden mantenerse más de 5 años en cultivos, así como en sangre y tejidos contaminados. Ciertos antibióticos como penicilina, estreptomycin, aureomicina y los del grupo macrólidos son leptospiricidas *in vivo* o *in vitro*. Estos microorganismos pueden sobrevivir en el medio ambiente por meses en condiciones favorables de humedad, pH neutro o ligeramente alcalino con temperaturas moderadas.

La habilidad de las leptospiras de pasar filtros que retienen otras bacterias (membrana, porcelana, asbestos, etc.) se ha usado para remover organismos no deseados, lo que también se logra inyectando material clínico contaminado a curieles o hámsters jóvenes y extrayendo sangre del corazón de 10 a 15 minutos después. El otro método es inocular placas con medios sólidos para obtener cultivos puros.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Es compleja y no bien conocida. En la membrana externa se localizan los antígenos responsables de la especificidad de tipo, con carácter protector. Existen antígenos principales y secundarios, cuya agrupación es característica de los diferentes serovares, lo que a su vez explica las reacciones cruzadas entre serovares relacionados. Se han demostrado, además, antígenos comunes al género *Leptospira*, situados más profundamente, que no tienen carácter protector.

Los anticuerpos aglutinantes son los requeridos para la protección pasiva. Los únicos antígenos protectores identificados son carbohidratos y han sido denominados de diferentes formas (F4, TM, PE, PAg, LLs, LPS). Está claro que todos derivan del lipopolisacárido y presentan diferencias en cuanto a su actividad endotoxina. Estos antígenos LPS o similares pueden ser utilizados como inmunógenos protectores. La fracción LPS es un inmunógeno

pobre, pero es posible conjugarla con proteínas portadoras, como el toxoide diftérico (DT), para aumentar su inmunogenicidad. De *Leptospira* se han extraído antígenos aglutinantes, fijadores del complemento, precipitantes y algunos específicos de serovar o de serogrupo.

El antígeno mayor TM (específico de serovar o serotipo) es la sustancia que participa en la aglutinación de los lipopolisacáridos. El antígeno sensibilizante de eritrocitos (ESS), extraído de la membrana externa del serovar no patógeno Patoc-1 y empleado en varias pruebas serológicas (HA, HL, FC), es género-específico y de naturaleza polisacáridica. Una glicoproteína obtenida mediante extracción alcalina de la fracción 4 ha resultado también inmunogénica. Se han producido seis anticuerpos monoclonales a partir de los epítopes de leptospiras que son polisacáridos. No existen métodos para introducir material genético en leptospiras patógenas o para generar mutantes definidas. No han sido aislados plásmidos en las leptospiras. Se han preparado anticuerpos antiidiotipo que inducen protección contra la infección.

PATOGENIA, PATOLOGÍA Y DATOS CLÍNICOS

A pesar de que estos microorganismos se comportan como gramnegativos y de que los animales con infección muestran muchos cambios sugestivos de la presencia de endotoxinas, estas no se han demostrado nunca en la leptospirosis. En realidad no se conocen con certeza los determinantes de su acción patógena. En cultivos ha sido señalada la producción de enzimas (catalasa, hialuronidasa) y sustancias tóxicas (hemolisinas y fibrolisinas, lipasas) por algunas especies patógenas.

Las leptospiras son muy invasivas debido a la producción de enzimas o a factores mecánicos, como la motilidad por excavación y a su tropismo orgánico. Ambas causas se han sugerido como mecanismos por los que estas alcanzan sitios normalmente protegidos del organismo, como el LCR y el ojo. La capacidad lesional de estos gérmenes puede ser debida a factores tóxicos (hemolisinas, endotoxinas). Algunas complicaciones renales y meníngeas que aparecen durante la enfermedad se ha sugerido que podrían deberse a causas inmunológicas, como inmunocomplejos y reacciones de hipersensibilidad retardada.

Ante todo síndrome febril de iniciación brusca y de origen desconocido, siempre que concurren antecedentes epidemiológicos de contacto con animales o sus productos, o medio ambiente contaminado con sus desechos, debe pensarse en la leptospirosis, independientemente de la presencia de ictericia, que sólo aparece en el 5 al 10 % de los pacientes (clásica enfermedad de Weil).

La leptospirosis es una zoonosis universalmente distribuida, que puede manifestarse por una amplia variedad de síntomas y signos, así como con diferentes formas clínicas. Esto hace que sea confundida con una gran cantidad de otras enfermedades, lo que le ha valido el sobrenombre de "la gran simuladora". En esta enfermedad pueden afectarse órganos como el riñón (nefritis intersticial, uremia, oliguria, anuria) o el hígado (ictericia, bilirrubinemia).

El período de incubación varía de 2 a 30 días, aunque a veces es 5 a 14 días. La tríada característica es la fiebre alta de iniciación brusca, cefalea intensa y mialgias, con gran toma del estado general (el paciente es incapaz de levantarse), acompañadas de los antecedentes epidemiológicos. La leptospirosis se denomina también "fiebre quebrantahuesos", los dolores de los músculos abdominales son tan intensos que pueden simular un abdomen agudo quirúrgico.

A menudo la evolución puede ser difásica, con una fase septicémica febril aguda, gripal, inespecífica (bacterias en sangre, LCR y órganos). Luego sigue un período afebril de 1 a 2 días, que se continúa con la fase inmune, que dura de 4 a 30 días. Cuando las leptospiras desaparecen de la sangre y del LCR se encuentran en el riñón y en el humor acuoso. Esta fase se caracteriza por la presencia de anticuerpos circulantes y la aparición de meningitis, uveítis y erupción eritematosa o exantema en los casos graves con afección hepática y renal. Muchos autores consideran que los mecanismos inmunes desempeñan un papel patogénico importante en la meningitis, porque esta aparece cuando ya no pueden demostrarse leptospiras en el LCR. Otro tanto sucede con las alteraciones de la función renal, que pueden ser profundas, desproporcionadas y responsables de los cambios histológicos que se producen en el riñón. La insuficiencia renal es, en primer lugar, resultado del daño hístico y habitualmente se

observan leptospiras en la luz tubular. La causa principal de las lesiones parece ser la hipoxemia o algún efecto tóxico directo de los microorganismos. En los estadios más tardíos de desarrollo de las lesiones renales, se observan cambios inflamatorios asociados con la presencia de inmunocomplejos circulantes, depósito de componentes del complemento y cuerpos electrodensos en los glomérulos, sugiriendo una glomerulonefritis por inmunocomplejos.

Es frecuente que esta enfermedad sea confundida con la gripe o influenza; el paciente puede utilizar antipiréticos de posible efecto anticoagulante que agravan el cuadro. La hepatitis leptospirósica puede evolucionar con sangramiento u oliguria-anuria (enfermedad de Weil). En otros casos, puede confundirse con una meningitis viral benigna. Los pacientes normalmente se recuperan rápido, aunque algunos tardan más tiempo (meses o años) y quedan con secuelas tardías neurológicas (parálisis, paresias, cefalea, neuritis) u oculares (uveítis, iridociclitis). La enfermedad puede tener una evolución fatal con hemorragia pulmonar, miocarditis, fallo total de órganos y uremia, con una mortalidad entre un 5 y un 30 %. Las cifras de morbilidad y mortalidad siempre dependerán de un diagnóstico certero y rápido, unido a un buen sistema de notificación. La gran cantidad de cuadros clínicos similares hacen difícil en ocasiones, el diagnóstico diferencial de esta entidad (Cuadro 37.5).

Cuadro 37.5. Principales enfermedades producidas por leptospiras

<i>Leptospira interrogans</i> serovares	Fuente de infección	Enfermedad en el hombre	Datos clínicos	Distribución
<i>autumnalis</i>	?	Fiebre pretibial, o fiebre del Fuerte Bragg	Fiebre, exantema sobre la tibia	EE. UU., Japón
<i>ballum</i>	Ratón	-	Fiebre, erupción, ictericia	EE. UU., Europa, Israel
<i>bovis</i>	Ganado, ratones silvestres	-	Fiebre, postración	EE.UU., Israel, Australia
<i>canicola</i>	Orina de perros	Ictericia infecciosa	Enfermedad gripal, meningitis aséptica	Universal
<i>grippotyphosa</i>	Roedores, agua	Fiebre de los pantanos	Fiebre, postración, meningitis aséptica	Europa, EE. UU., África
<i>hebdomadis icterohemorrhagiae</i>	Ratas, ratones Orina de ratas, agua	Fiebre de los siete días Enfermedad de Weil	Fiebre, ictericia Ictericia, hemorragias, meningitis aséptica	Japón, Europa Universal
<i>mitis</i>	Cerdos	Enfermedad de los porquerizos	Meningitis aséptica	Australia
<i>pomona</i>	Cerdos, ganado	Enfermedad de los porquerizos	Fiebre, postración, meningitis aséptica	Europa, EE. UU., Australia

Tomado de: Jawetz E, Melnick J y Aldeberg E. Manual de Microbiología Médica. Cuadro 25-1. México D.F.: Ed. El Manual Moderno, p. 345.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

El diagnóstico deberá basarse en el conocimiento de la patogenia del microorganismo, así como de sus propiedades. Los métodos generales de laboratorio para este diagnóstico pueden dividirse en: métodos de demostración, de aislamiento, serológicos y de identificación de cultivos desconocidos.

Muestras. Durante el período de leptospiremia, los productos patológicos útiles son sangre y líquido cefalorraquídeo (durante la primera semana). Si no va a ser procesada de inmediato, la sangre debe desfibrinarse o mezclarse con anticoagulante (heparina 0,2 mg/mL u oxalato de sodio 0,5 mL de una solución al 1 % para 5 mL de sangre). El líquido de hemodiálisis es otra muestra útil.

El primer suero pareado deberá obtenerse durante la primera fase de la enfermedad y en la segunda semana, el segundo suero, de 7 a 10 días después del primero. Puede obtenerse una tercera muestra una semana después de la segunda. Estas muestras deben ser congela-

das tan pronto lleguen al laboratorio. La detección de anticuerpos en una sola muestra de suero puede no estar relacionada con la enfermedad. Es posible emplear también LCR para estudio de anticuerpos.

Las muestras de orina pueden ser obtenidas durante la segunda o tercera semana de la enfermedad. Debido a la acidez de la orina del hombre, deben administrarse antiácidos al paciente o dieta alcalina uno o dos días antes. Otra variante es ajustar el pH de la orina a neutro o ligeramente alcalino. Esta muestra debe refrigerarse si no va a ser procesada de inmediato.

Las muestras *post mortem* más adecuadas son riñón (parte cortical), hígado y bazo, así como sangre del corazón o líquido cefalorraquídeo. Pueden obtenerse muestras de humor acuoso, líquido peritoneal, cerebro, fetos abortados, semen y leche materna. Deben preservarse congelados en glicerol a partes iguales.

Para propósitos epidemiológicos pueden obtenerse muestras de agua y suelos, y en caso de epidemias o epizootias, sangre, riñón, hígado de animales capturados. En estudios basados en cultivos en mataderos, sólo se toman muestras de riñón.

Examen directo. La microscopia de campo oscuro se utiliza en muestras de sangre, suero, sedimento de orina, líquido cefalorraquídeo o en sedimento de mezclas de tejidos. En manos experimentadas es muy valiosa. En ocasiones, la leptospiremia es escasa y pueden no ser visualizadas las leptospiras o, por el contrario, ser confundidas con restos de fibrina u otros artefactos que poseen movimiento Browniano y se asemejan a leptospiras. Este no debe ser empleado como único método de diagnóstico; debe ser complementado con otros.

Las coloraciones más empleadas para este diagnóstico son la impregnación argéntica y el Giemsa. Con estas sucede lo que con el campo oscuro en cuanto a los artefactos que pueden falsear el resultado. Otro tanto sucede con la inmunofluorescencia directa, la inmunoperoxidasa, que utiliza un reactivo coloreado (carbazol) y la hibridización *in situ* en cuanto a la presencia de artefactos.

Aislamiento. Las leptospiras se pueden aislar de sangre, orina y líquido cefalorraquídeo por métodos de cultivo directo o por inoculación animal.

1. *Cultivo directo:* la sangre y el líquido cefalorraquídeo y el líquido de homodiálisis se deben inocular a varios tubos con 5 mL de medio, se incuban de 28 a 30 °C o a temperatura ambiente al abrigo de la luz. Se examinan por microscopia de campo oscuro; cuando aparecen las espiroquetas características, se subcultiva en medio fresco. No se debe descartar o dar como negativo el cultivo hasta 2 meses o más. La orina, aunque se obtenga con todas las condiciones de asepsia y antisepsia, se considera potencialmente contaminada. Deben realizarse diluciones seriadas en múltiplos de 10 en solución salina o medio de cultivo. Se inoculan de tres a cinco tubos con 5 mL de medio, con 1 o 2 gotas de las diluciones 1:1 000; 1:10 000 y 1:100 000; también se puede filtrar la muestra con filtro de membrana desechable (0,22 µm) o sembrarse directamente en medio de cultivo con inhibidores. Después se procede igual que con la sangre.

De tejidos y órganos (riñón, hígado, bazo) se obtienen asépticamente pequeñas cantidades y se siembran en tubos con medio líquido o se pueden homogeneizar en medio de cultivo o solución salina; se procesa después igual que la sangre. Dado que estos organismos no se multiplican en el medio ambiente, las muestras ambientales (agua y suelos) se procesan de otra manera. Para la muestra de agua se utiliza un cilindro hueco estéril que se introduce a 20 cm de profundidad, nunca más allá de 2 m de la superficie. Se sedimenta en frasco de boca ancha 100 g de sedimento más 100 g de agua destilada, se homogeneiza y se deja en reposo. Después se filtra el sobrenadante por filtro desechable 0,22 µm y se siembra en medio de cultivo con inhibidores o sin ellos. A partir de este momento se procesa igual que las muestras anteriores; las muestras de suelo (tierra) se diluyen con agua destilada, se homogeneizan, se toma el sobrenadante y se procesa igual que el agua.

2. *Inoculación animal:* aunque los animales más sensibles para el aislamiento de *Leptospira* son hámsters y cobayos recientemente destetados, pueden ser utilizados otros animales (gazapos, pollitos, meriones, chinchillas, etc.). Se inoculan por vía intraperitoneal 0,5 a 1 mL

de la muestra (orina, agua, etc.), controlándose diariamente peso y temperatura. Cuando aumente la temperatura o disminuya el peso, se debe extraer sangre del corazón para cultivo. De lo contrario, se extrae sangre del corazón a los 4; 8; 12 y 20 días de inoculados para cultivo. A los 20 días se sacrifica el animal y se siembran pequeñas porciones de riñón, hígado y bazo en 2 o 3 tubos con medio de cultivo y se procede igual que con las demás muestras. Como se observa, a partir de la inoculación son necesarios al menos 80 días como mínimo para el aislamiento de leptospiras por inoculación animal.

La identificación de los aislamientos se realiza mediante marcadores genéticos y se concluye con la determinación de serogrupo y serovar.

Procedimientos serológicos. El diagnóstico de laboratorio de leptospirosis no puede esperar por los resultados del aislamiento o inoculación animal, debido a que el paciente debe ser tratado de inmediato cuando existe sospecha. Dada la demora de estos procedimientos, deberá basarse en la determinación de anticuerpos en sueros pareados, obtenidos y mantenidos en forma estéril. En animales se toma una muestra única de un grupo representativo del rebaño.

Se han desarrollado múltiples técnicas serológicas, como las que se analizan a continuación.

Test de aglutinación microscópica (MAT)

Es el método de referencia para el diagnóstico de la leptospirosis; se emplea para detectar anticuerpos en suero de enfermos o sospechosos, para identificar aislamientos, clasificar cepas y sirve de base para evaluar cualquier otro método serológico. Los antígenos para esta técnica pueden ser cultivos vivos ($2,5 \times 10^8/\text{mL}$) en medios líquidos, que incluyan los serovares representativos de todos los serogrupos que existan en el área. Estos pueden ser también inactivados con formalina antes de ser utilizados, aunque los títulos obtenidos son más bajos y se produce aumento de las reacciones cruzadas. Se enfrentan suero del paciente diluido y el antígeno (serovar) a investigar a partes iguales, en una placa excavada de plástico. La lectura se realiza en microscopio con condensador de campo oscuro. Todo suero que en determinada dilución muestre la presencia de 50 % de aglutinación o más, se considerará reactivo y se seleccionará para titulación. Con esta reacción se detectan anticuerpos después de la primera semana de la enfermedad, que aumentan alrededor de la tercera o cuarta semana y persisten a títulos bajos, por meses o años, por lo que resulta difícil establecer si se trata de una infección presente o anticuerpos residuales de una enfermedad pasada. Para confirmar un caso por esta técnica debe producirse un aumento significativo del título de anticuerpos del segundo suero con respecto al primero. Esta técnica es especie específica y detecta IgG e IgM. Si la cepa responsable de la enfermedad no está presente, debe incluirse en la batería de antígenos una cepa de una leptospira no patógena (*biflexa*), que reaccionará en forma cruzada como antígeno género-específico, con todas las leptospiras patógenas. Para un diagnóstico certero, se recomienda combinar la MAT con un test que detecte IgM, usando un antígeno de amplio espectro, por ejemplo, ELISA, hemaglutinación o hemólisis pasiva.

Test de aglutinación microscópica con antígeno muerto (MSAT)

Utiliza leptospiras formolizadas y centrifugadas, resuspendidas a una cierta densidad estándar. Se utiliza un "pool" de antígenos representativos de varios serogrupos. La aglutinación que se produce es semicuantitativa y puede leerse a simple vista. Esta reacción es menos específica que la MAT, es especie específica y de la misma forma que esta, no diferencia entre anticuerpos de la enfermedad reciente o tardía.

Test de aglutinación macroscópica con *L. biflexa*

Son técnicas género-específicas; emplean extractos de *L. biflexa* que poseen antígenos de reacción cruzada comunes a todas las leptospiras. Las más usadas son:

1. Aglutinación con antígeno de serogrupo.
2. Aglutinación en carta con antígenos coloreados.
3. Aglutinación con antígeno termorresistente de Manzonelli.

Los antígenos que se utilizan son leptospiras muertas por formol, tiomersal o calor; detectan infecciones agudas y recientes. Son menos sensibles que la MAT, pero más rápidas. Se enfrentan el suero del paciente y el antígeno a partes iguales en placas, láminas o en cartas de aglutinación de Brewer. El test con antígeno termorresistente (TR) de Patoc I, muerto por calor y concentrado, emplea un solo reactivo; detecta infección reciente o tardía; es útil por su rapidez; se enfrentan el suero del paciente y el antígeno en una lámina, se homogeneiza y se lee a simple vista. Su especificidad está influida por la especie animal a que pertenezca el suero a investigar. Tiene amplia reactividad en sueros humanos y de conejos. Se producen falsos positivos por falta de estandarización del antígeno.

Inmunofluorescencia indirecta (IFA)

El antígeno utilizado en esta reacción es una cepa de *L. biflexa* serovar *patoc* del serogrupo *patoc I* o la cepa Wijnberg de *L. interrogans* serovar *copenhageni*. Es útil para detectar infecciones recientes; las leptopiras se adsorben a láminas microscópicas y el suero diluido del paciente se aplica sobre los antígenos. Los anticuerpos se detectan con conjugados antihumanos fluorescentes.

Fijación de complemento (FC)

Es una prueba género-específica que emplea como antígenos suspensiones de *L. biflexa*. Detecta infección reciente, es útil en el pesquaje de grandes cantidades de sueros. Es una herramienta epidemiológica para diagnóstico rápido. Las desventajas son las sustancias anticomplementarias del suero y la corta vida e inestabilidad del antígeno.

ELISA (ensayo de fase sólida ligado a enzima)

Es un test género-específico. El antígeno, preparado con *L. interrogans* serovar *copenhageni*, puede reaccionar con el suero resultante de la infección con leptospiras de 11 serogrupos. Se han utilizado varias preparaciones antigénicas de leptospiras no patógenas con tratamiento térmico de los cultivos. Usando diferentes conjugados de peroxidasa puede determinarse tanto IgG como IgM. Los anticuerpos IgM comienzan a detectarse alrededor de 1 semana después del inicio de la enfermedad y se mantienen títulos altos después de 4 a 6 semanas; después, gradualmente, bajan a lo largo de varios meses. Los anticuerpos IgG pueden detectarse un poco más tarde que los IgM; se encuentran después de unas pocas semanas y caen poco a poco, con los años. La detección de anticuerpos específicos IgM con una sola muestra es confirmatoria de infección reciente por leptospiras. Cuando se utilizan antígenos de leptospiras no patógenas (de amplio espectro de reactividad), no se podrá detectar el serovar causante de la infección. En general, el test de ELISA se hace positivo más temprano durante la infección que la MAT, pero es menos específico.

Contrainmunolectroforesis

También es una técnica género-específica, poco sensible. El antígeno es difícil de preparar. Se necesita de un equipo (fuente de poder) y los reactivos son de fácil adquisición.

Hemaglutinación pasiva (HA)

Esta técnica está descentralizada en nuestro país desde hace más de 15 años para el diagnóstico en humanos. Utiliza el antígeno polisacárido ESS (eritrocito sensibilizante de leptospiras), extraído de *L. biflexa*. Detecta infección reciente (IgM). El antígeno se fija a glóbulos de carnero y se enfrenta al suero del paciente.

Hemólisis pasiva (HL)

En todos los aspectos es similar a la HA, salvo en que el suero se descontamina con cloroformo y en la prueba principal se utiliza complemento de curiel.

Aglutinación con látex

Los anticuerpos específicos aglutinantes en los sueros de pacientes son detectados con antígenos específicos de leptospiras, unidos a partículas de látex. La unión antígeno-anticuerpo se aprecia por la formación de agregados que se observan a simple vista, cuando la muestra de suero se mezcla con las partículas coloreadas de látex. Con el uso de antígenos de leptospiras patógenas de amplio espectro de reactividad unidos a partículas de látex, se asegura la detección de una variedad de infecciones. Otras pruebas serológicas son la intradérmica, que utiliza un antígeno denominado leptospirina, muy poco usada.

Las técnicas de avanzada para la taxonomía e identificación de *Leptospira* incluyen el PCR, la de restricción del ADN por endonucleasas y las que utilizan anticuerpos monoclonales.

TRATAMIENTO

Si tenemos en cuenta que la leptospirosis tiene una evolución clínica sumamente variable y de que suele ser una enfermedad no fatal, resulta difícil evaluar con precisión la eficacia del tratamiento antimicrobiano. Existen controversias acerca de si se utiliza o no. La prevención de las complicaciones resulta de gran ayuda en el tratamiento. Las leptospiras son sensibles a la mayoría de los antibióticos. La penicilina es la más efectiva, cuando se administra tempranamente. En los pacientes graves debe iniciarse el tratamiento con penicilina G (1,5 millones de unidades cada 6 horas) o ampicilina (500-1 000 mg cada 6 horas) por vía endovenosa, aun si el paciente lleva varios días con la enfermedad. Otro régimen recomendado antes de que ocurra la ictericia son grandes dosis de penicilina cristalina (6 a 8 millones de unidades) en dosis divididas por vía endovenosa durante 5 a 7 días o 4 a 5 millones diarios a partes iguales, de penicilina cristalina y procaína por vía intramuscular. Aunque pueden ocurrir reacciones de Jarish-Herxheimer con el uso de penicilina, esta complicación parece ser rara. En casos menos graves, en que los pacientes toleran la vía oral, se puede emplear la doxicilina (100 mg dos veces al día), ampicilina (500-750 mg cada 6 horas). Las cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima, ceftizoxima) son activas *in vitro* contra esta enfermedad, pero falta experiencia clínica. Estas han sido utilizadas con muy buenos resultados en nuestro país en casos en que la penicilina no ha sido efectiva. La doxiciclina en una dosis de 200 mg semanal se utiliza con éxito en la prevención de esta enfermedad.

La penicilina no se recomienda para la profilaxis. La dihidroestreptomocina se utiliza con éxito en el tratamiento de la leptospirosis animal. El cloranfenicol no es efectivo ni en humanos ni en animales. Los cuidados sintomáticos y de soporte son de mucha importancia en el tratamiento para detectar y manejar las complicaciones como la insuficiencia renal, la hipotensión y las hemorragias importantes, que ponen en peligro la vida del paciente. La inmunoterapia es otra variante de tratamiento aunque no sustituye la quimioterapia, no está disponible generalmente. Se ha empleado también gammaglobulina específica junto con la quimioterapia. Aunque no está contraindicada en la hepatitis o insuficiencia renal, la hipersensibilidad al suero limita su utilidad. Se necesita conocer exactamente el serovar responsable para considerar su utilización.

EPIDEMIOLOGÍA, PROFILAXIS Y CONTROL

El principal reservorio de *Leptospira* en la naturaleza es una variada gama de mamíferos domésticos y de vida libre, distribuidos en todo el mundo. Antiguamente los múridos (ratas y ratones) fueron considerados los principales hospederos de mantenimiento. Con posterioridad se le concedió gran importancia a perros, bovinos, cerdos y otros tipos de ganado, mofetas, zorros mapaches y zarigüellas. En áreas endémicas, la prevalencia de la infección en mamíferos puede ser extremadamente alta. Estos microorganismos se han aislado esporádicamente en pájaros, garrapatas, helmintos, anfibios y reptiles. No existen evidencias epidemiológicas importantes de presencia en otras especies.

En hospederos naturales, *Leptospira* se encuentra localizada en los *tubulis* tortuosos renales, pasando de aquí a la orina. La persistencia y la intensidad de la leptospiruria dependen tanto del hospedero como del serovar infectante. Los roedores, una vez infectados, eliminan durante toda su vida estos agentes por la orina. La leptospirosis en los animales evoluciona como en el hombre, desde una enfermedad inaparente hasta una enfermedad fatal aguda. El aborto es la manifestación clínica más sobresaliente en ganado bovino y cerdos.

Esta enfermedad evoluciona en brotes epidémicos y se transmite por contacto directo o indirecto con la orina de los animales portadores (suelos húmedos, corrientes, estanques o pantanos contaminados).

Las leptospiras penetran al organismo a través de las mucosas del ojo, nasofaringe, tracto genitourinario o boca, así como de abrasiones de la piel y por vía transplacentaria. Se ha reportado la penetración a través de la piel intacta.

El hombre y los animales de todas las edades son susceptibles a infecciones por *Leptospira*. El sexo no es un factor determinante de susceptibilidad a la infección y la prevalencia en los hombres es debida a la mayor oportunidad ocupacional o recreativa que las mujeres.

Los factores ecológicos que influyen en la epizootiología de la leptospirosis son: densidades altas de población animal; su migración natural o planeada; las características geográficas, agronómicas y meteorológicas del ambiente y los cambios estacionales. El hombre es un hospedero accidental en la cadena de transmisión. Con raras excepciones, esta enfermedad no se transmite de persona a persona. Su ocurrencia en el humano está asociada, primariamente, a exposición ocupacional: los trabajadores de alcantarillas, procesadores de pescado y aves, carniceros, mineros, limpiadores de zanjas y otros trabajadores de lugares donde exista infestación por ratas tienen mayor riesgo, así como los veterinarios, propietarios y entrenadores de perros, trabajadores de porquerizas, mataderos y agricultores. Las zonas de cultivo de arroz, caña, vegetales, frutos menores y las plantaciones de caucho, pueden presentar condiciones epidemiológicas para la explosión de grandes epidemias.

Han sido reportados brotes importantes en soldados, tanto en tiempo de paz como en maniobras que impliquen exposición a ambiente natural contaminado. En muchas zonas del mundo, casos con antecedentes de haber nadado en estanques, arroyos y ríos de áreas contaminadas se han reportado. La sustitución de cultivos, la mecanización del corte, el control sanitario de animales importados, las acciones contra el reservorio y la separación, tratamiento o sacrificio de animales enfermos, así como medidas de protección personal (botas, guantes, espejuelos), la limpieza de establos, la desinfección con hipoclorito y otros agentes, y la prohibición de beber o bañarse en aguas de ríos, charcos y lagunas en zonas de riesgo, son también medidas a tener en cuenta. La doxiciclina en dosis de 200 mg semanal se utiliza en la prevención de esta enfermedad en los trabajadores o personal expuesto de otro tipo.

En numerosos países han sido preparadas vacunas de células enteras formuladas con los serovares prevalentes. Estas son vacunas totales inactivadas por formol o calor, con eliminación de las proteínas por centrifugación o por cultivo en medios libres de proteínas, que se emplean para la protección tanto del hombre como de los animales.

En Cuba se desarrolló una vacuna que ha sido administrada, con resultados satisfactorios, en varias provincias que presentaban aumento en la incidencia de esta enfermedad. Se trata de una vacuna trivalente de células enteras (vax-Spiral), que incluye en su composición los tres serovares de los serogrupos más prevalentes en el país (*Icterohaemorrhagiae* serovar

copenhageni, *Canicola* serovar *canicola* y *Pomona* serovar *mozdok*); está inactivada por formaldehído y adsorbida en gel de hidróxido de aluminio. Se aplica en dos dosis con intervalo de 6 semanas. Existe también una vacuna para animales domésticos con estos mismos serovares.

OTRAS ENFERMEDADES POR ESPIROQUETAS

SPIRILLUM MINOR (SPIRILLUM MORSUS MURIS)

Spirillum minor provoca el sodoku o fiebre por mordedura de ratas. Es un organismo espiral rígido de 3 a 5 µm, que se diferencia de las espiroquetas porque la motilidad se realiza tanto sobre un flagelo polar convencional como por flexión. Este organismo es portado por ratas en todo el mundo y puede dar lugar a una de las dos formas de fiebre por mordeduras de ratas que se producen en el hombre (la otra es producida por el *Streptobacillus moniliforme*). A partir de la mordedura primaria de la rata, estos organismos invaden los ganglios linfáticos regionales y eventualmente la corriente sanguínea, debido a lo cual causan linfadenitis, exantema y fiebre de tipo recurrente. La frecuencia de la enfermedad dependerá del contacto del hombre con las ratas. Este microorganismo no ha sido cultivado nunca en medios artificiales y su aislamiento de humanos sólo se hace por inoculación animal. Los cobayos y ratones inoculados con material de ganglios linfáticos o sangre infectada, portan después en su sangre grandes cantidades de estos organismos que se pueden hacer visibles con láminas teñidas por el método de Wright. La enfermedad, ocasionalmente, da lugar a falsos positivos en las pruebas serológicas para sífilis. La penicilina, estreptomycin y las tetraciclinas, son efectivas para el tratamiento.

ESPIROQUETAS DE LA BOCA Y MUCOSAS NORMALES

En la flora normal de la boca y de los genitales externos se encuentran espiroquetas que deben ser conocidas. La *Borrelia bucalis* en la boca y la *Borrelia refringens* en los genitales externos, que puede confundirse con *Treponema pallidum*. Aún no existe una clasificación definitiva de estos microorganismos; en condiciones normales son saprofitos inofensivos; casi todos son anaerobios estrictos.

ENFERMEDAD FUSOESPIROQUETAL

En determinadas condiciones, especialmente cuando existe un déficit de las defensas del hospedero, lesiones con destrucción de las mucosas, deficiencias nutricionales o infecciones necróticas concomitantes, las espiroquetas de la flora normal de la boca, junto a un bacilo fusiforme anaerobio en forma de cigarro (fusobacteria), encuentran condiciones locales adecuadas de reducción del potencial de óxido-reducción, comienzan a dividirse, y dan lugar a una enfermedad denominada gingivostomatitis ulcerativa (boca de trinchera), llamada frecuentemente estomatitis de Vincent. Se produce una amigdalitis ulcerativa con afectación masiva del tejido, a la que se llama con frecuencia angina de Vincent. Esto se observa, además, en bronquiectasias, en úlceras de las piernas con estasis venosas y abscesos pulmonares donde existe destrucción de tejidos por cocos piógenos y especies de *Bacteroides* (fusobacterias).

En todas estas enfermedades, el tejido necrótico y los cocos piógenos crean condiciones de anaerobiosis para el desarrollo exagerado de la flora fusoespiroquetal. Muchas especies de *Fusobacterium* pueden coexistir con otros anaerobios. El diagnóstico se puede hacer por frotis teñidos por la técnica de Gram para observación microscópica; el cultivo no se realiza. Estas enfermedades ceden rápidamente con la terapia antibiótica; las tetraciclinas y las penicilinas son las drogas de elección. El tratamiento, para ser efectivo, debe dirigirse primero contra la condición patológica que determinó la destrucción del tejido, teniendo en cuenta que los microorganismos de la flora fusoespiroquetal no son patógenos primarios.

Estas enfermedades no son transmisibles por contacto directo. A pesar de esto, se han producido brotes en niños y adultos jóvenes condicionados por la mala higiene, la presencia de virus del herpes simple o a deficiencias nutricionales.

RESUMEN

Treponema pallidum es la espiroqueta causal de la sífilis. Son espirales delgadas terminadas en punta fina, de 5 a 15 μm de largo por 0,2 μm de ancho, con espiras en número de 14 a 18 separadas. Son muy móviles debido a que poseen un flagelo periplásmico o endoflagelo fijado a ambos extremos de la espiral. Teniendo en cuenta su tenuidad para observarlos, es necesario utilizar la iluminación de campo oscuro; se tiñen por impregnación argéntica. No ha sido cultivado nunca; es un organismo microaerófilo (1-4 % oxígeno). Son sensibles a la desecación y la elevación de la temperatura, a los arsenicales trivalentes, el mercurio y el bismuto. La penicilina es el tratamiento de elección en la sífilis. Los treponemas dan lugar a la formación de dos tipos de anticuerpos: los no específicos o reaginas, que reaccionan con antígeno de cardioplipina; y los específicos o anticuerpos antitreponémicos, que reaccionan con antígenos treponémicos.

La sífilis es una enfermedad contagiosa y crónica de transmisión sexual, de varios años de duración, que evoluciona por etapas o períodos bien diferenciados, separados por fases de latencia; puede ser adquirida o congénita. La sífilis adquirida se transmite por contacto sexual y evoluciona en tres fases o estadios. La sífilis primaria, con el chancro duro, úlcera de bordes duros y base limpia; no dolorosa, con treponemas abundantes, acompañada de adenopatías satélites. La sífilis secundaria, con lesiones en piel y mucosas: o la roseola y los condilomas con abundantes treponemas, así como diseminación de estos agentes por todo el organismo. La sífilis terciaria o tardía aparece varios años después de la primaria y la secundaria, y es producida por hipersensibilidad del organismo a los treponemas, caracterizada por los llamados "gomos", lesiones granulomatosas destructivas, en piel, huesos y otros órganos; así como afectación del aparato cardiovascular y el Sistema Nervioso Central. La sífilis congénita se adquiere a través de la placenta, de la madre al feto, durante el embarazo. Puede afectarse el feto: con aborto, feto muerto o nace vivo con el cuadro clínico de la sífilis adquirida o con los estigmas de la sífilis congénita (nariz en silla de montar, tibia en sable, dientes de Hutchinson, etc.).

El diagnóstico clínico, siempre que no pasen inadvertidos los períodos de sífilis primaria y secundaria, no es difícil de realizar. Este se debe corroborar con la identificación del *T. pallidum* por microscopía de campo oscuro de las lesiones primarias y secundarias, o con el suero del paciente a través de las pruebas serológicas para sífilis; las inespecíficas con antígeno no treponémico de Wasserman que detectan reagina (VDRL) (RPR), son muy útiles, con ellas se pueden producir los falsos positivos biológicos; cuando las pruebas no treponémicas resultan positivas en otras enfermedades no relacionadas con la sífilis (lupus eritematoso, etc.). Las pruebas específicas o treponémicas (FTA-ABS) (TPI) (FAHA) que utilizan treponemas como antígeno y detectan anticuerpos antitreponémicos, pueden ser usadas para corroborar el diagnóstico de sífilis. La penicilina es treponemocida y es el medicamento de elección en la sífilis; en caso de alergia pueden usarse la doxiciclina, la tetraciclina o la eritromicina. Sólo la protección con condones en el sexo puede evitar la infección. No existen vacunas profilácticas.

Existen enfermedades no relacionadas con la sífilis producidas por otros treponemas patógenos: la treponematosi no venérea o Bejel ocasionada por el *Treponema pallidum* ssp. *endemicum*, se transmite por contacto o por artrópodos, afecta piel y mucosa. El pian producido por el *Treponema pallidum* ssp. *pertenue* y la pinta o mal de Pinto causada por el *Treponema carateum*; estos treponemas afectan también la piel, las mucosas y órganos internos en forma menos frecuente. El diagnóstico es similar al de la sífilis y el medicamento de elección, la penicilina.

El género *Borrelia*, de la familia *Treponemataceae*, está constituido por espiroquetas con espiras muy separadas y puntas finas. Tienen gran movilidad. Son bacterias anaerobias o microaerófilas y se cultivan a 30° C. El género incluye muchas especies, de las cuales 10 infectan al hombre; nueve producen fiebre recurrente endémica y una la fiebre recurrente epidémica (*B. recurrentis*). Esta enfermedad se adquiere por la picadura de un vector (*Pediculus humanus*) o por garrapatas del género *Ornithodoros* y comienza bruscamente con escalofríos, fiebre, mialgia, artralgia, etc. El cuadro remite después de unos días para

desarrollarse una fase asintomática seguida por otra con síntomas, pudiendo presentarse hasta 10 recurrencias. Este fenómeno responde a la capacidad de variación antigénica o mutación que tiene esta bacteria. El diagnóstico se realiza por la búsqueda de espiroquetas en la sangre del paciente durante los períodos febriles, o por la presencia de anticuerpos en el suero. Además del tratamiento antimicrobiano, se recomiendan medidas higiénicas y educación sanitaria. La enfermedad de Lyme, producida por la *Borrelia burgdorferi*, se caracteriza por la aparición de una lesión eritematosa de centro claro, el eritema migrans, en el sitio de la picadura de la garrapata (*Ixodes*), seguido por una segunda fase sintomática con fiebre, linfadenopatía, artralgia, mialgia, carditis y afectación del sistema nervioso. Es una enfermedad que aparece, sobre todo, en regiones donde habitan ciervos.

El género *Leptospira* está constituido por bacterias helicoidales, flexibles, finas, que poseen espiras muy apretadas y extremos semicirculares en forma de gancho. Son muy móviles, con movimientos de flexión y rotación alrededor de su eje, y en serpentina u horadación. Son bacterias aerobias que se desarrollan bien en medios de cultivo especiales con temperatura entre 28 y 30 °C, en 7 a 14 días. La leptospirosis es una zoonosis transmitida por contacto de la piel y las mucosas escoriadas con aguas contaminadas con orina de roedores y otros animales domésticos y salvajes (reservorio). La enfermedad comienza de forma súbita con fiebre, escalofríos, mialgias, artralgia, cefalea y sufusión conjuntival; después de 1 a 2 semanas pueden presentarse hemorragias importantes. En casos graves es posible que aparezca insuficiencia renal y en 5 a 10 % de los pacientes puede desarrollarse ictericia; otras complicaciones son la meningitis aséptica y la bronconeumonía. En la primera semana de la enfermedad pueden aislarse leptospiras de la sangre y LCR. A partir de la segunda semana, se aíslan de la orina y pueden detectarse anticuerpos en suero. Es una enfermedad frecuente y de distribución mundial. La profilaxis consiste en la protección del personal expuesto y la aplicación de vacunas.

BIBLIOGRAFÍA

- Azimi, P. Infección por espiroquetas. Sífilis. Leptospirosis. Tomado de: Nelson WE, Behrman RE, Hielgman RM, Arvin AM. Nelson. Tratado de Pediatría. 15ta ed. Cap. 201, 1998:1073;1079;1083.
- Ballard SA, Faine S, Adler B. Purification and characterization of a protein antigen from *Leptospira interrogans* serovar *hardjo*, common to a wide range of bacteria. J Gen Microb 1990;136:1849-57.
- Baseman JB. The spirochetes. En: Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS with 29 additional contributors: Microbiology, 4th ed. Chapter 37. Washington D.C: American Society for Microbiology, 1990:645-56.
- Farrelly HE, Adler B, Faine C. Opsonic monoclonal antibodies against lipopolysaccharide antigens of *Leptospira interrogans* serovar *hardjo*. J Med Microbiol 1987;23:1-7.
- Faine S. Guidelines for the control of Leptospirosis. WHO. Geneva 173, 1982:1-171.
- Gay Prieto J, Guthe T. Treponematoses y enfermedades venéreas. 4ta ed. Ed. Científ. Med, 1969:5-244.
- Isogai E, Isogai H, Fujii N, Oguma K. Macrophage activation by leptospiral lipopolysaccharide. Med. Zbl. Bakt. Germany, 1990;273:200-8.
- Jost BH, Adler B, Faine S. Experimental immunization of hamsters with lipopolysaccharide antigens of *Leptospira interrogans*. J Med Microbiol 1989;29:115-1200.
- Livet PN. Leptospirosis: re-emergin or re-discovered disease. J Med Microbiol, 1999;48:417-8.
- Matsuzawa T, Matsumoto R, Susuki T, Yanagihara Y. Protective activity of glycolipid antigen against infection by *Leptospira interrogans* serovar *canicola*. J Gen Microbiol, 1990;136:327-30.
- _____, Susuki R, Yanagihara Y. Comparison of protective effects with tetra-valent glycolipid antigens and whole cell-inactivated vaccine in experimental infection of *Leptospira*. Microbiol Immunol 1991;35(3):199-208.
- Myers DM. Leptospirosis Manual of laboratory methods for the diagnosis of leptospirosis. Pan Am Health Org Tec Not, 1985;(30):5-36.
- Pumarola A. Leptospira. En: Pumarola A. et al. Microbiología y Parasitología. Cap. 49. España, 1994:544-0.
- Russell CJ, Northion Hughes CA. Spirochetes. En: Howard BJ, Keiser IF, Smith TF et al. Clinical and Pathogenic Microbiology. 2nd ed. Washington, 1999:529-40.
- Rodríguez-Torres A. Espiroquetas: *Treponema* y *Borrelia*. En: Pumarola A et al. Microbiología y Parasitología. Cap. 48. España, 1994:534-43.
- Shapiro ED. Enfermedad de Lyme. Borreliosis Lyme. En: Nelson WE, Behrman RE, Hielgman RM, Arvin AM. Nelson. Tratado de Pediatría 15ta. ed. Cap. 198, 1998:1045-49.
- Vinh T, Shi M, Adler B, Faine S. Characterization and taxonomic significance of Lipopolysaccharide of *Leptospira interrogans* serovar *hardjo*. Jour. of Gen Microbiol. Great Britain, 1989;135:2663-73.
- WHO. Report of discussions of the WHO working group on leptospirosis vaccines development and Vaccinology Nagoya. Japan. March 1993:1-13.
- Winn WC (Jr). Spirochetal Diseases. En: Koneman EW, Allen SD, Dowell VR (Jr), Sommers HM. Diagnostics Microbiology. 3rd ed. Chap. 17, 1998:765-75.



Micoplasmas y Ureaplasma

Miriam F. Pérez Monrás
Caridad Almanza Martínez

INTRODUCCIÓN

Mycoplasma, con 69 especies reconocidas, y *Ureaplasma*, con dos especies, son miembros importantes de la familia *Mycoplasmataceae*. En los seres humanos, cuatro especies son de gran importancia:

Mycoplasma pneumoniae, que causa neumonía, traqueobronquitis y faringitis, y se ha asociado con infecciones articulares y de otra naturaleza. Llamado también agente Eaton en honor del investigador que lo aisló originalmente.

Mycoplasma hominis, el cual produce, a veces, fiebre posparto y se ha encontrado con otras bacterias en infecciones de la trompa uterina (de Falopio). Es causa importante de pielonefritis y enfermedad inflamatoria pélvica.

Ureaplasma urealyticum, que es una causa de uretritis no gonocócica en el varón y se asocia con enfermedades pulmonares en lactantes prematuros de bajo peso al nacer.

Mycoplasma genitalium, el cual se relaciona de cerca con *M. pneumoniae* y se ha asociado con infecciones uretrales y de otra naturaleza.

Estos y otros micoplasmas que colonizan al hombre han sido relacionados con una variedad de otras anomalías: infertilidad, aborto espontáneo, vaginitis, cervicitis, epididimitis y prostatitis. Sin embargo, su papel etiológico en tales procesos sigue sin estar definido por completo.

Mycoplasma y *Ureaplasma* son las bacterias de vida libre más pequeñas. Forman filamentos pleomorfos con un diámetro medio de 0,2 a 0,8 μm . Muchos de estos microorganismos son capaces de pasar a través de los filtros de 0,45 μm , usados para eliminar las bacterias. Los micoplasmas no tienen pared celular ni membrana intracitoplásmica; el contenido del citoplasma sólo está rodeado por una membrana plasmática bien desarrollada.

La ausencia de pared celular convierte los microorganismos en resistentes a penicilinas, cefalosporinas y otros antibióticos que interfieren con la integridad de la pared.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS MICOPLASMAS

1. Los micoplasmas más pequeños tienen un tamaño de 125 a 250 nm .

2. Son altamente pleomorfos, pues carecen de una pared celular rígida y en vez de esto, están recubiertos por una “membrana unitaria” de tres capas, que contiene un esteroles (los micoplasmas, pero no todos los molicutes, requieren esteroides para proliferar).
3. Son resistentes a la penicilina puesto que carecen de estructuras de pared celular sobre las cuales actúa la penicilina, pero son inhibidas por tetraciclina o eritromicina.
4. Pueden reproducirse en un medio libre de células; en agar, el centro de la colonia total se encuentra embebido característicamente por debajo de la superficie.
5. El crecimiento es inhibido por anticuerpos específicos.
6. Los micoplasmas tienen afinidad por las membranas celulares de los mamíferos.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Microorganismos típicos. Debido al pequeño tamaño de las colonias de este microorganismo, no es posible su estudio por los métodos bacteriológicos ordinarios. La morfología parece diferente según el método de examen: campo oscuro, inmunofluorescencia, frotis teñidos por el método Giemsa y medios sólidos o líquidos.

El crecimiento en medios líquidos origina muchas formas diferentes, entre ellas: anillos, cuerpos bacilares y espirales, filamentos y gránulos. El crecimiento en medios sólidos consiste, principalmente, en masas protoplásmicas plásticas de forma indefinida que se deforman con facilidad.

Aunque los micoplasmas se clasifican desde el punto de vista taxonómico como bacterias gramnegativas, se tiñen poco debido a la ausencia de pared celular.

Cultivo. Muchas cepas de micoplasmas crecen en caldo de peptona con infusión de corazón y 2 % de agar (pH 7,8), al cual se ha añadido cerca de 30 % de líquido ascítico humano o de suero de animal (caballo, conejo). Después de la incubación a 37 °C durante 48 a 96 horas no habrá, quizá, turbiedad, pero las tinciones por el método de Giemsa del sedimento centrifugado, ponen de manifiesto estructuras pleomórficas características y el subcultivo en medios sólidos produce colonias minúsculas.

Después de 2 a 6 días en medio bifásico (caldo sobre agar) y agar, incubado en una placa de Petri que ha sido sellada para evitar la evaporación, pueden detectarse con una lupa colonias aisladas que miden de 20 a 500 µm. Estas colonias son redondas y tienen superficie granulosa en un centro oscuro típicamente sepultado en el agar. Los microorganismos se pueden teñir para su estudio microscópico mediante la colocación de un cuadrado semejante sobre una laminilla y cobertura de la colonia con un vidrio cubreobjeto en el que se ha vertido una solución alcohólica de azul de metileno y azul, la cual se ha evaporado (fijación en agar). Estas laminillas se pueden teñir también con anticuerpo fluorescente específico.

Características del crecimiento. Se plantea que los micoplasmas son únicos en microbiología a causa de su tamaño extremadamente pequeño y su crecimiento en medios complejos, pero libres de células. Los micoplasmas parásitos crecen en medios libres de células que contienen lipoproteínas y esteroles. Son resistentes al acetato de talio a concentración de 1:10 000, el cual se puede usar para inhibir las demás bacterias.

Muchos micoplasmas utilizan glucosa como fuente de energía; los ureaplasmas requieren urea.

Algunos micoplasmas humanos producen peróxidos y hemolizan los eritrocitos. En cultivo celular *in vivo*, los micoplasmas se desarrollan predominantemente sobre las superficies celulares. Muchas líneas de cultivo celular de animales y de humanos establecidas llevan micoplasmas como contaminantes.

Variaciones. Una de las características principales de los micoplasmas es su pleomorfismo.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

En el hombre se pueden identificar, por lo menos, 15 especies, entre ellas: *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma salivarium*, *Mycoplasma orale*, *Mycoplasma fermentans*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Ureaplasma urealyticum* y otras.

Las especies se clasifican por sus aspectos bioquímicos y serológicos. Los antígenos fijadores de complemento de los micoplasmas son glucolíticos y los antígenos para las pruebas ELISA son proteínas. Algunas especies tienen más de un serotipo.

PATOGENIA

Muchos micoplasmas patógenos poseen forma filamentosa o de botella y muestran estructuras polares especializadas en sus extremos, que median la adherencia a las células hospedadoras. Estas estructuras son un grupo complejo de proteínas interactivas, adhesinas y proteínas accesorias para la adherencia.

Las proteínas son abundantes en prolina. Los eventos subsecuentes en la infección son más difíciles de entender, pero pueden incluir factores como: citotoxicidad directa a través de la generación de peróxido de hidrógeno y radicales superóxido; citólisis mediada por reacciones antígeno-anticuerpo o por quimiotaxis y acción de las células mononucleares, así como competencia por nutrientes y agotamiento de estos.

INFECCIÓN POR *MYCOPLASMA*

Infección humana

Los micoplasmas son parte de la flora normal de la boca y pueden proliferar a partir de saliva, mucosas bucales, esputo o tejido amigdalino normales.

Mycoplasma hominis se encuentra en la bucofaringe de menos del 5 % de los adultos. La presencia de *Mycoplasma pneumoniae* en la bucofaringe se asocia, generalmente, con enfermedad.

Algunos micoplasmas son habitantes de las vías genitourinarias, particularmente en mujeres. Puede cultivarse *Mycoplasma hominis* del 1 al 5 % de varones asintomáticos y del 30 al 70 % de mujeres asintomáticas.

Ureaplasma urealyticum se halla en las vías genitales del 5 al 20 % de varones activos sexualmente y del 40 al 80 % de mujeres activas sexualmente. También se presentan otros micoplasmas en las vías genitales inferiores.

El *M. hominis* y el *U. urealyticum* comparten, junto con la *C. trachomatis*, las primeras causas de uretritis no gonocócica.

Infección de animales

Una enfermedad contagiosa y a veces mortal es la pleuroneumonía bovina que afecta al ganado bovino, la cual es probable se disemine por el aire. La agalactia de ovejas y cabras en la región del Mediterráneo está descrita como una infección generalizada con lesiones locales de la piel, ojos, articulaciones, ubre y escroto; se produce atrofia de las mamas lactantes en las hembras. En aves de corral ocasionan algunas enfermedades respiratorias que tienen importancia desde el punto de vista económico. Los microorganismos se pueden transmitir desde la gallina hacia el huevo y hacia el pollo. En animales como cerdos, perros, ratas, ratones y otras especies, es posible hallar infección por micoplasmas en pleura, peritoneo, articulaciones, vías respiratorias y ojos.

Infecciones de las plantas

Los micoplasmas producen en las plantas clorosis del áster y atrofia del maíz. Los transmiten los insectos y se pueden suprimir mediante tetraciclinas.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO

Muestras. Consisten en exudado faríngeo, esputo, exudado inflamatorio y secreciones de los aparatos respiratorio, uretral o genital.

Examen microscópico. No es posible el examen directo de cualquier muestra en busca de micoplasmas, debido a la ausencia de pared celular.

Cultivo. Las muestras deben ser inoculadas en medios especiales suplementados con suero (proporciona colesterol), extracto de levadura (precursores de los ácidos nucleicos), glucosa, un indicador de pH y penicilina (para inhibir el crecimiento de otras bacterias). El crecimiento en los cultivos es lento, con un tiempo de generación de 6 horas y poco sensible. Según estudios bien diseñados, el 36 % de los aislamientos se detectan antes de las 2 semanas, mientras que los restantes exigen incubación hasta 6 semanas. La incubación de los cultivos debe ser a 37 °C y con 5 % de CO₂ en condiciones de microaerofilia. No está disponible en la mayoría de los laboratorios.

El metabolismo de la glucosa, con cambios consiguientes del pH, indica crecimiento en el cultivo. Las colonias de *M. pneumoniae* son pequeñas y tienen un aspecto granular y homogéneo, distinto de la morfología "huevo frito" propia de otros micoplasmas.

Ureaplasma requiere de urea para su crecimiento, pero es inhibido por el aumento de alcalinidad a causa del metabolismo de la urea. Así, pues, el medio de cultivo se debe suplementar con urea y con un tampón eficaz. A pesar de todas las precauciones, estos micoplasmas mueren con rapidez después del aislamiento inicial.

Pruebas serológicas. Es factible demostrar anticuerpos en los seres humanos infectados mediante diferentes pruebas de diagnóstico. Las pruebas de fijación del complemento (FC) se pueden efectuar con antígenos glucolípidos extraídos con cloroformo y metanol de los micoplasmas cultivados. Las pruebas de inhibición de la hemaglutinación (IH) se realizan con eritrocitos tratados con ácido tánico por medio de antígenos de micoplasmas absorbidos. Es posible utilizar, además, la inmunofluorescencia indirecta. Otro método útil es la contraelectroforesis, cuyos resultados se obtienen en 1 hora.

Debido a la gran frecuencia de pruebas serológicas positivas en personas normales, se requiere un título creciente de anticuerpos para que tengan importancia diagnóstica.

TRATAMIENTO

Muchas cepas de micoplasmas se inhiben por la acción de diversos antimicrobianos, pero la mayor parte son resistentes a penicilinas, cefalosporinas y vancomicina. Tetraciclinas y eritromicina son eficaces tanto *in vitro* como *in vivo*, y en la actualidad son los fármacos de elección para los casos de neumonías producidas por este agente. Algunos ureaplasmas son resistentes a la tetraciclina.

EPIDEMIOLOGÍA, PREVENCIÓN Y CONTROL

El aislamiento del ganado infectado controlará la pleuroneumonía y la agalactia muy contagiosa en regiones limitadas. No se dispone de vacunas. La neumonía micoplasmática produce una enfermedad respiratoria viral transmisible.

MYCOPLASMA PNEUMONIAE Y NEUMONÍAS ATÍPICAS

MICROORGANISMOS CAUSALES

Mycoplasma pneumoniae es un patógeno extracelular importante como causa de neumonía, y a diferencia de otros micoplasmas es un aerobio estricto, el cual se presenta, en especial, en personas de 5 a 20 años.

PATOGENIA E INMUNIDAD

Mycoplasma pneumoniae se transmite de una persona a otra por medio de las secreciones respiratorias infectadas. La infección comienza por adherencia de la punta del microorganismo a un receptor en la superficie de las células epiteliales; proceso mediado por una proteína adhesina específica sobre la estructura terminal diferenciada del germen. Esta proteína de adherencia llamada P1, interacciona de modo específico con residuos de ácido neuramínico en la superficie de las células epiteliales. Después de la adherencia se produce, primero, ciliostasis y más adelante destrucción de la capa superficial de las células epiteliales. Hasta el momento se desconoce el mecanismo de tal efecto citopático, pero ha sido relacionado con liberación de peróxido de hidrógeno y anión superóxido. Puesto que la exposición a *M. pneumoniae* es común durante la niñez y la enfermedad resulta más grave en los individuos mayores, se considera posible que la patología observada se deba a la respuesta inmune del hospedero. Es rara la diseminación hacia órganos extrapulmonares.

DATOS CLÍNICOS

El espectro clínico de la infección por *M. pneumoniae* varía entre infección asintomática y neumonitis grave, con afección neurológica y hematológica ocasionales y diversas lesiones cutáneas posibles. Ocurre miringitis bulosa espontánea en voluntarios inoculados de manera experimental.

El período de incubación varía entre 1 a 3 semanas. Al principio la tos es no productiva, pero en ocasiones es paroxística. Más tarde tiende a expectorarse esputo teñido con sangre y se presenta dolor torácico. Luego, cuando la infiltración pulmonar ha llegado al extremo, la enfermedad tiende a ser grave. Ocurren resolución de la infiltración pulmonar y mejoría clínica con lentitud durante 1 a 4 semanas. La muerte es rara y se produce, por lo general, por insuficiencia cardíaca. Puede presentarse anemia hemolítica como complicación.

Otras enfermedades posiblemente relacionadas con *M. pneumoniae* incluyen: eritema multiforme, afección del Sistema Nervioso Central (meningitis, meningoencefalitis, polineuritis), miocarditis, pericarditis, artritis y pancreatitis.

DATOS DE LABORATORIO

El *Mycoplasma* causante de un cuadro de neumonía puede aislarse mediante cultivo de la faringe y del esputo. Se produce un aumento de los anticuerpos específicos contra *M. pneumoniae*, que se puede demostrar por pruebas de fijación del complemento, inmunofluorescencia, hemaglutinación pasiva o inhibición del crecimiento.

TRATAMIENTO

Puede mejorar el cuadro clínico el tratamiento con tetraciclinas o eritromicinas, pero la tetraciclina sólo se usa en pacientes adultos.

EPIDEMIOLOGÍA, PREVENCIÓN Y CONTROL

Por cada caso de neumonitis franca, hay varios casos de enfermedad respiratoria más leve. *M. pneumoniae* se transmite, sobre todo, por contacto directo a través de las secreciones respiratorias. Se ha relacionado la presencia de anticuerpos contra *M. pneumoniae* con resistencia a la infección. Ocurren reacciones inmunitarias mediadas por células. Se han preparado vacunas experimentales a partir de *M. pneumoniae* que se ha hecho crecer en agar. No se dispone de vacunas para la aplicación clínica.

Descripción: es una enfermedad bacteriana febril de las vías respiratorias inferiores. El comienzo es gradual, con cefalalgia, malestar general, tos (a menudo paroxística), dolor faríngeo y, con menor frecuencia, dolor subesternal que puede ser pleurítico. En los casos graves, la neumonía puede avanzar de un lóbulo a otro y ser bilateral. La duración de la

enfermedad varía de días a un mes o más. La infección bacteriana secundaria y otras complicaciones como la afección del Sistema Nervioso Central y el síndrome de Stevens-Johnson son infrecuentes, y los casos mortales son raros.

El diagnóstico se basa en el aumento de los títulos de anticuerpos entre el suero de la fase aguda y el de la convalecencia, incremento que se da en el curso de varias semanas. Es posible cultivar el agente infeccioso en medios especiales.

Agente infeccioso: *Mycoplasma pneumoniae*.

Distribución: se presenta en todo el mundo en forma esporádica, endémica a veces epidémica, en particular en instituciones y en grupos militares. Las epidemias aparecen con mayor frecuencia a finales del verano y en el otoño. No hay selectividad en cuanto a raza o sexo; se presenta en todas las edades, pero es asintomática o muy leve en los niños menores de 5 años de edad. La enfermedad clínica y manifiesta es más común entre los escolares y los adultos jóvenes. Se producen epidemias cada 4 a 8 años.

Reservorio: el hombre.

Modo de transmisión: inhalación de gotitas, el contacto directo con una persona infectada o con objetos recién contaminados con secreciones nasofaríngeas de un enfermo con la forma aguda y con síntomas respiratorios. Son frecuentes los casos secundarios de neumonía entre los contactos, los miembros del núcleo familiar y las personas que atienden a los pacientes.

Período de incubación: 6 a 32 días.

Período de transmisibilidad: se desconoce.

Susceptibilidad y resistencia: la neumonía clínica se presenta en 3 a 30 % de las infecciones por *M. pneumoniae*, según la edad. La enfermedad varía desde una faringitis afebril leve hasta una enfermedad febril que afecta las vías respiratorias superiores o inferiores. La resistencia se ha correlacionado con la presencia de anticuerpos humorales que persisten durante 1 o más años.

Métodos de control

Medidas preventivas. Evitar el hacinamiento en las viviendas y en los dormitorios, especialmente en instituciones, cuarteles y embarcaciones.

Control del paciente, de los contactos y del ambiente inmediato. Se deben tener en cuenta los siguientes aspectos:

1. Notificación a la autoridad local de salud: notificación obligatoria de las epidemias, pero no de los casos aislados.
2. Aislamiento: ninguno.
3. Desinfección concurrente: de las secreciones nasofaríngeas. Limpieza terminal.
4. Cuarentena: ninguna.
5. Inmunización de contactos: ninguna.
6. Investigación de los contactos y de la fuente de infección: es útil para detectar casos clínicos tratables entre los miembros del grupo familiar.
7. Tratamiento específico: eritromicina o tetraciclina. Se prefiere la eritromicina para los niños menores de 8 años de edad.

Medidas en caso de epidemia. No se cuenta con medidas de control de eficacia comprobada.

Repercusiones en caso de desastre. Ninguna.

Medidas internacionales. Las orientadas por los centros colaboradores de la OMS.

MYCOPLASMA HOMINIS

Se puede cultivar de las vías urinarias superiores en cerca del 10 % de los pacientes con pielonefritis. Se asocia con cuadros de salpingitis y abscesos tuboováricos. Se ha aislado *M. hominis* de la sangre de cerca del 10 % de mujeres que tienen fiebre posaborto o posparto y, ocasionalmente, de cultivos de líquido articular de pacientes con artritis.

UREAPLASMA UREALYTICUM

Causa uretritis no gonocócica en algunos varones, pero una mayor parte de estos casos son ocasionados por *Chlamydia trachomatis*. Es común en las vías genitales femeninas. Se ha asociado con enfermedades pulmonares en lactantes prematuros con bajo peso al nacer y con cuadros de infertilidad asociados a *Mycoplasma genitalium*.

Se han obtenido datos acerca de este germen con el empleo de la reacción en cadena de la polimerasa, sondas moleculares y pruebas serológicas. Se relaciona con casos de uretritis no gonocócica aguda y crónica.

La identificación de especies de micoplasmas incluye el color del caldo, el aspecto de las colonias en el agar y el estudio de las pruebas bioquímicas.

TRATAMIENTO, PREVENCIÓN Y CONTROL

La tetraciclina, que tiene la ventaja de ser activa, además, contra *Chlamydia*, una causa común de uretritis no gonocócica, es eficaz también contra *M. hominis* y *Ureaplasma*. Contra las cepas de *Ureaplasma* resistentes a la tetraciclina se puede emplear eritromicina o espectinomicina. En contraste con otros micoplasmas, *M. hominis* se muestra resistente a la eritromicina.

Las infecciones por *M. hominis* y *Ureaplasma* se transmiten mediante contacto sexual. Así, pues, es posible prevenirlas si se evita la actividad sexual o se usan precauciones tipo barreras apropiadas.

Es importante realizar el diagnóstico y tratamiento oportunos a las gestantes, para prevenir las posibles complicaciones en relación con el binomio materno-fetal.

MYCOPLASMA ASOCIADO AL SIDA

Infecciones con especies de micoplasmas han sido identificadas con más frecuencia en pacientes de SIDA y en pacientes VIH positivos que en pacientes negativos al VIH.

Los organismos pueden identificarse directamente de las muestras clínicas por técnicas moleculares e inmunohistológicas, o aislados de fluidos del cuerpo de pacientes infectados con VIH.

Estos micoplasmas incluyen: *Mycoplasma fermentans*, *Mycoplasma pirum*, *Mycoplasma genitalium* y *Mycoplasma penetrans*. De estas cuatro especies de micoplasmas asociados a los pacientes de SIDA, describiremos más en detalle las infecciones por *M. fermentans* en este tipo de pacientes, pues su asociación es mundial.

MYCOPLASMA FERMENTANS

Fue inicialmente aislado del tracto urogenital humano en 1950. Era un organismo no conocido, raro y "fastidioso" de crecer en medios de cultivo. *M. fermentans* fue también aislado de la médula ósea de pacientes leucémicos y no leucémicos en 1970. Es patógeno para el humano. Se ha encontrado infección sistémica por este micoplasma en pacientes SIDA; se ha estudiado el papel de este organismo en humanos enfermos, incluyendo SIDA.

El aislamiento de micoplasma en cultivo a partir de muestras infectadas es extremadamente difícil y la infección por este microorganismo puede no producir altos títulos de anticuerpos en estos hospederos.

Estos organismos pleomórficos, libres de pared celular, consiguen no demostrarse en tejidos dañados por tinciones especiales que sí revelan hongos, bacterias o parásitos.

Aun con el uso de la microscopía electrónica, estos micoplasmas pleomórficos y pequeños son difíciles para distinguir fragmentos de citoplasma celular u organelos relacionados con la degeneración celular.

La demostración de pacientes SIDA infectados con micoplasmas depende del uso de técnicas basadas en más de un diagnóstico principal, como son: la inmunobioquímica, microscopio electrónico, reacción en cadena de la polimerasa, hibridación *in situ* y aislamiento en cultivo.

RESUMEN

No es posible estudiar los micoplasmas por los métodos bacteriológicos ordinarios, a causa del tamaño pequeño de sus colonias, la plasticidad y delicadeza de sus células individuales, por la falta de pared rígida y coloración pobre con colorantes de anilina. Los micoplasmas son únicos en microbiología por su tamaño extremadamente pequeño y su crecimiento en medios complejos, pero libres de células.

Es infructuoso el examen directo de las muestras y las mismas se inoculan en medios sólidos especiales. Muchas cepas de micoplasmas se inhiben por la acción de diversos antimicrobianos, pero la mayor parte son resistentes a penicilinas, cefalosporinas y vancomicina. Las tetraciclinas y sus derivados, y los macrólidos son eficaces, y en la actualidad son el tratamiento de elección.

El aislamiento del ganado infectado controlará la pleuroneumonía y la agalactia muy contagiosa en regiones limitadas.

BIBLIOGRAFÍA

- Akaboshi S. Transient extreme spindles in a case of subacute *Mycoplasma pneumoniae* encephalitis. Acta Paediatr Jpn 1998; 40(5):479-82.
- Baseman JB, Tully JG. Mycoplasmas: Sophisticated, reemerging and burdened by their notoriety. Emerging Infect Dis 1997;3:21.
- Benenson AS. Mycoplasma. En: Manual para el control de las enfermedades transmisibles. Informe Oficial de la Asociación Estadounidense de Salud Pública. 16th ed. Washington D.C.: OPS. Publicación Científica; 564, 1997:338-40.
- Cassell GH. The changing role of mycoplasmas in respiratory disease and AIDS. Clin Infect Dis,1991;317 (Suppl 1):S1.
- Cassell GH, Cole BC. Mycoplasmas as agents of human disease. N Engl J Med, 1981;304:80.
- File TM. The role of atypical pathogens: *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* and *Legionella pneumophila* in respiratory infection. Infect Dis Clin North Am, 1998;12(3):569-92.
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg A. Microbiología Médica. 16ta ed. Traducida de la 21ta edición en inglés. Ed. El Manual Moderno. Capítulo 26. Micoplasmas. 1999:369-73.
- Lind K. Serological cross-reactions between *Mycoplasma genitalium* and *Mycoplasma pneumoniae*. J Clin Microbiol, 1984; 20: 1036.
- Luby JP. Pneumonia caused by *Mycoplasma pneumoniae* infection. Clin Chest Med, 1991;12:237-44.
- Maniloff J. Mycoplasmas: Molecular Biology and Pathogenesis. Washington D.C.: American Society for Microbiology 1992;7:200.
- Sánchez PJ, Regan JA. *Ureaplasma urealyticum* colonization and chronic lung disease in low birth weight infants. Ped Infect Dis, 1988;7:542.
- Wilson HM, Collier AM. Ultrastructural study of *Mycoplasma pneumoniae* in organ culture. J Bacteriol 1976;125:332-9.



Clamidias

Miriam F. Pérez Monrás
Caridad Almanza Martínez

INTRODUCCIÓN

Los miembros de la familia *Chlamydiaceae* son bacterias intracelulares obligadas, consideradas inicialmente como virus. Presentan características morfológicas similares, comparten un antígeno de grupo común y se multiplican en el citoplasma de las células hospederas por medio de un ciclo de desarrollo único. Poseen membranas internas y externas similares a las de las bacterias gramnegativas; contienen ADN y ARN; tienen ribosomas procarióticos, sintetizan sus propias proteínas, ácidos nucleicos y lípidos; y son susceptibles a numerosos antibióticos. A diferencia de otras bacterias gramnegativas, sin embargo, las clamidias carecen de capa de peptidoglicano entre las membranas internas y externas, y experimentan un ciclo de crecimiento único. Carecen de mecanismos para la producción de energía metabólica y no pueden sintetizar el ATP.

Chlamydiae se divide en tres especies distintas: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia psittaci* y *Chlamydia pneumoniae* (conocida previamente como cepa TWAR), sobre la base de: rango de hospederos, producción de enfermedad, morfología del cuerpo elemental, morfología del cuerpo de inclusión, glucógeno en las inclusiones, su composición antigénica, susceptibilidad a las sulfonamidas y si presentan ADN en el plásmido.

Las clamidias se replican a través de un ciclo de crecimiento único que ocurre dentro de las células hospederas susceptibles. Es imprescindible conocer las dos formas distintas desde el punto de vista morfológico de la familia *Chlamydiaceae*: el cuerpo elemental (CE) que nunca se divide y es infeccioso y el cuerpo reticulado (CR) que se multiplica en el interior de las vacuolas de las células hospederas y no es infeccioso, para facilitar la comprensión del ciclo de desarrollo.

La partícula infecciosa estable es una célula pequeña (cuerpo elemental) de cerca de 0,3 μm de diámetro, con un nucleoide electrónico denso. El cuerpo elemental es captado según la especie de clamidias y el tipo de célula hospedera; los microorganismos penetran a través de endosomas o fagosomas. Los cuerpos elementales tienen pared celular rígida por los puentes disulfuros más que por los peptidoglucanos entrecruzados de la mayoría de las bacterias, por lo que las clamidias no son sensibles a las penicilinas. El cuerpo elemental se reorganiza en uno grande (cuerpo reticulado) que mide cerca de 0,5 a 1 μm y está desprovisto de un nucleoide electrónico denso. La vacuola total se llena con cuerpos elementales derivados por fisión binaria de los cuerpos reticulados para formar una inclusión en el citoplasma de la célula hospedera.

Los CR son capaces de sintetizar ADN, ARN y proteínas propios, pero carecen de las vías metabólicas necesarias para producir fosfatos ricos en energía. Han sido denominados “parásitos de energía” debido a ese defecto.

CICLO DE DESARROLLO

El ciclo comienza con la unión del corpúsculo elemental infeccioso, este tiene adhesinas en su superficie que se unen a las microvellosidades de las células epiteliales cilíndricas del hospedero. Una vez en el interior de la célula, las clamidias permanecen dentro de fagosomas citoplasmáticos, en lo que tiene lugar el ciclo de replicación. Entre 6 y 8 horas después de entrar en la célula, los CE se reorganizan en CR metabólicamente activos. Los CR se dividen repetidamente por medio de fisión binaria.

Durante la fase de replicación, el fagosoma es conocido como cuerpo de inclusión. Aproximadamente 18 a 24 horas después de la infección, los CR se reorganizan en CE más pequeños. Al cabo de 48 a 72 horas, la célula se rompe y libera más de 1 000 CE infecciosos.

ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN ANTIGÉNICA

La pared celular exterior semeja la pared celular de las bacterias gramnegativas, pues tiene un alto contenido en lípidos. Es rígida, se plantea que está formada por una matriz con enlace tetrapeptídico. La lisozima no tiene efecto sobre las paredes celulares de clamidias. En los cuerpos elementales y reticulares hay tanto ADN como ARN. Los cuerpos reticulados contienen una cantidad de ARN aproximadamente cuatro veces mayor que de ADN, mientras que los cuerpos elementales contienen cantidades iguales de ARN y ADN. El genoma circular de las clamidias es similar al de los cromosomas bacterianos.

PROPIEDADES DE TINCIÓN

Se utilizan diferentes técnicas de tinción para la visualización de los cuerpos elementales: tinción de Machiabelo modificada, tinción de Lugol, tinción de Giemsa, entre otras. En la tinción con Giemsa se tiñen de morado, en contraste con el azul del citoplasma de la célula hospedera. La reacción de Gram no es útil. Las partículas e inclusiones se tiñen de verde brillante por inmunofluorescencia, con anticuerpos específicos a grupo, específicos a especie o específicos a serovar.

ANTÍGENOS

Poseen antígenos específicos a grupos compartidos (género). Estos son lipopolisacáridos termoestables, con ácido 2-ceto-3-desoxioctónico como componente inmunodominante. Los antígenos específicos a especie o específicos a serovar son, principalmente, proteínas de la membrana exterior. Un microorganismo dado puede contener varios antígenos específicos.

CRECIMIENTO Y METABOLISMO

Requieren de un hábitat intracelular. Proliferan en cultivos de una diversidad de líneas celulares eucarióticas, pero con mayor preferencia se utilizan *in vitro* las líneas celulares HeLa 229, McCoy, BHK-21, células de riñón de mono verde y búfalo, similar a su rango estrecho de contagiosidad *in vivo*. Con frecuencia se usan células McCoy tratadas con cicloheximida para aislar este germen. Todas las especies del género *Chlamydia* proliferan en huevos embrionados, fundamentalmente en el saco vitelino. Requieren intermediarios ricos en energía provenientes de la célula hospedera para desempeñar sus actividades biosintéticas. El método del cultivo sigue siendo el más específico para diagnosticar las infecciones causadas por el germen.

REACCIÓN A LOS AGENTES FÍSICOS Y QUÍMICOS

Se inactivan por el calor. Dejan de ser infecciosas después de 10 minutos de exposición a 60 °C. Algunas especies desecadas al aire pueden ser infecciosas por largos períodos. Se inactivan por el éter, por el formol o por el fenol.

Los inhibidores de la síntesis de la pared celular como las penicilinas y las cefalosporinas, dan por resultado la producción de partículas deformes. Son eficaces en las infecciones clínicas las tetraciclinas y eritromicinas, que son inhibidores de la síntesis proteínica.

CARACTERÍSTICAS DE LA RELACIÓN HOSPEDERO-PARÁSITO

La propagación de una especie a otra (por ejemplo, aves a seres humanos) como la psitacosis, conduce con frecuencia a la enfermedad. El hospedero infectado produce anticuerpos con poco efecto protector contra los diversos antígenos de clamidias. El tratamiento con medicamentos antimicrobianos eficaces (ejemplo: tetraciclina) puede eliminar las clamidias del hospedero infectado. La inmunización humana actualmente está en desarrollo, pues se trabaja en investigaciones relacionadas con una futura vacuna.

CLASIFICACIÓN DE LAS CLAMIDIAS

Se han caracterizado tres especies:

1. *C. trachomatis*: produce inclusiones intracitoplásmicas compactas que contienen glucógeno; suelen inhibirse por las sulfonamidas. Incluye agentes de trastornos en el hombre: tracoma, conjuntivitis de inclusión, uretritis no gonocócica, salpingitis, cervicitis, neumonitis de lactantes y linfogranuloma venéreo, y neumonitis del ratón relacionados con el serovar.
2. *C. pneumoniae*: provoca inclusiones intracitoplásmicas que carecen de glucógeno; suele ser resistente a las sulfonamidas. Causa infecciones respiratorias en el hombre.
3. *C. psittaci*: ocasiona inclusiones intracitoplásmicas difusas que carecen de glucógeno, suele ser resistente a las sulfonamidas. Incluye agentes de psitacosis humana, ornitosis de aves, meningoneumonitis, neumonitis felina y otras enfermedades de animales.

CHLAMYDIA TRACHOMATIS: INFECCIONES OCULARES, GENITALES Y RESPIRATORIAS

El hospedero natural para *C. trachomatis* es el hombre. Todas las clamidias se multiplican en los sacos vitelinos de embriones de pollo y causan la muerte del embrión cuando el número de partículas se vuelve lo suficientemente grande. La replicación intracitoplásmica produce como resultado la formación de inclusiones compactas con una matriz de glucógeno, en las cuales están incluidos los cuerpos elementales.

Se ha descrito que de acuerdo con el serovar así es la enfermedad que se produce. Los serovares asociados específicamente con tracoma endémico son: A, B, Ba y C; los que se asocian con infecciones genitourinarias son: D-K; y aquellos que producen linfogranuloma venéreo son: L1, L2 y L3. Las biovariantes humanas han sido subdivididas en 15 serotipos llamadas serovariantes, sobre la base de diferencias antigénicas entre las cepas (Cuadro 39.1).

Tracoma

El tracoma o queratoconjuntivitis crónica es una enfermedad relacionada con la pobreza y el hacinamiento, transmitida de ojo a ojo por aerosoles o por contacto con las manos y que ocasiona una ceguera total. Comienza con cambios inflamatorios agudos en la conjuntiva y en la córnea, y progresa hasta producir fibrosis y ceguera.

Cuadro 39.1. Espectro clínico de infecciones por *Chlamydia trachomatis*

Serovariantes	Hospedero	Infección	Complicaciones
A, B, Ba y C	Mujeres, hombres, niños	Tracoma	Ceguera
B, D-K	Mujeres	Cervicitis, uretritis, proctitis, conjuntivitis	Salpingitis, endometritis, perihepatitis, embarazo ectópico, infertilidad, endometritis posparto
B, D-K	Hombres	Uretritis, uretritis posgonocócica, proctitis, conjuntivitis	Epididimitis, síndrome de Reiter
B, D-K	Lactantes	Conjuntivitis, neumonía, colonización asintomática, faríngea y gastrointestinal	
L1, L2, L3	Mujeres, hombres	Linfogranuloma venéreo	Estenosis rectal, obstrucción linfática

Tomado de: Murray, PR. Microbiología Médica. 2da ed. Capítulo 39: Chlamydiae 1997:371-80,

Datos clínicos

Los síntomas iniciales del tracoma son lagrimeo, exudado mucopurulento, hiperemia conjuntival e hipertrofia folicular. El examen microscópico de la córnea revela queratitis epitelial, infiltrados subepiteliales y extensión de los vasos del limbo al interior de la córnea (paño). Se puede presentar fibrosis de la conjuntiva, deformación de los párpados y se produce, además, lesión por el movimiento de las pestañas sobre la córnea. Secundariamente se puede originar una infección bacteriana y causar en años la ceguera.

Diagnóstico de laboratorio

Cultivo. Una de las técnicas de cultivo más utilizadas es la inoculación de raspados conjuntivales a cultivos de células McCoy tratadas con cicloheximida, lo cual permite el crecimiento de *C. trachomatis*. El diagnóstico puede establecerse después de 3 días de incubación, buscando inclusiones por inmunofluorescencia o tinción con Lugol o Giemsa.

Pruebas serológicas. Los pacientes desarrollan anticuerpos de grupo y específicos a serovar en el suero y en las secreciones oculares. La inmunofluorescencia es el método más recomendado para su detección.

Tratamiento

Se han empleado sulfonamidas, eritromicinas y tetraciclinas en infecciones oculares. Puede obtenerse una mejoría clínica con una dosis mensual de 300 mg de doxiciclina. Es posible que persista *C. trachomatis* durante el tratamiento y después del mismo es común la recurrencia de la actividad.

Epidemiología y control

Esta patología es endémica primariamente en África, Asia y en la cuenca del Mediterráneo. En estas zonas, la infección en la niñez puede estar generalizada y es frecuente que se produzca ceguera como complicación de superinfecciones bacterianas. El control de la enfermedad depende de mejorar las condiciones higiénico-sanitarias y del empleo de medicamentos en el tratamiento. Las vacunas se encuentran en fase experimental.

CHLAMYDIA TRACHOMATIS. PATOGENIA E INMUNIDAD

Chlamydia trachomatis sólo puede infectar una gama limitada de células hospederas. Los receptores para los CE se limitan de modo primario a células epiteliales no ciliadas, columnares, cuboides o transicionales, que se encuentran en las mucosas de la uretra, endocérvix, endometrio, trompas de falopio, ano y recto, tracto respiratorio y conjuntiva. Las cepas de linfogranuloma venéreo (LGV) causan la infección sistémica en virtud de su capacidad para infectar células reticuloendoteliales de los linfáticos. Las manifestaciones clínicas de esas infecciones por clamidias se deben a destrucción directa de las células durante la replicación, así como a la respuesta inflamatoria del hospedero.

Las clamidias penetran a través de abrasiones o laceraciones diminutas. Las lesiones del LGV se forman en los ganglios linfáticos que drenan la zona de la infección primaria. Los abscesos se componen de agregados de células mononucleares, rodeadas por células endoteliales. Las lesiones pueden convertirse en necróticas, atraer leucocitos polimorfonucleares y provocar diseminación del proceso inflamatorio hacia los tejidos adyacentes.

La rotura consiguiente del ganglio linfático causa formación de abscesos, fisuras, tractos sinusales o fistulas. La infección por serotipos de *C. trachomatis* no LGV estimula una respuesta inflamatoria grave a base de neutrófilos, linfocitos y células plasmáticas. Acaba por formarse verdaderos folículos linfoides con centros germinales.

CHLAMYDIA TRACHOMATIS. INFECCIONES GENITALES Y CONJUNTIVITIS DE INCLUSIÓN

Chlamydia trachomatis es la segunda causa más frecuente de enfermedad de transmisión sexual en el mundo. La mayoría de las infecciones del tracto genital deben su origen a los serotipos de la D-K.

La mayor parte de las infecciones genitales son asintomáticas en las mujeres, pero se pueden diseminar para causar enfermedad sintomática, bartolinitis, uretritis, cervicitis, endometritis, perihepatitis, salpingitis y como complicación obstrucción tubaria, infertilidad y embarazos ectópicos. La infección por clamidias suele pasar inadvertida en las pacientes asintomáticas. Entre las mujeres con riesgo alto de infección por clamidias se incluyen las parejas sexuales de hombres con uretritis no gonocócicas causada por clamidias. Las infecciones sintomáticas se caracterizan por exudado mucopurulento y ectopia hipertrófica. La uretritis por *C. trachomatis* se puede asociar o no con infección cervical simultánea.

La mayoría de las infecciones genitales causadas por *C. trachomatis* en los hombres evolucionan con síntomas; sin embargo recientemente se ha comprobado que hasta el 25 % de tales infecciones en los hombres pueden ser asintomáticas. Alrededor del 35 al 50 % de los casos de uretritis no gonocócica son ocasionadas por *C. trachomatis*.

La uretritis posgonocócica se debe a coinfección por *Neisseria gonorrhoeae* y *C. trachomatis*; la infección por clamidias se manifiesta después del tratamiento eficaz de la gonorrea. Las infecciones uretrales por clamidias provocan menos exudado purulento. *Neisseria gonorrhoeae* y clamidias son las causas más comunes de epididimitis en los varones sexualmente activos. Se ha reportado que el 15 % de los casos de proctitis en hombres homosexuales están causados por *C. trachomatis*.

Se cree que el síndrome de Reiter (uretritis, conjuntivitis, poliartritis y lesiones mucosas) se desencadena por la infección genital por *C. trachomatis*. Aunque no se han aislado clamidias en el líquido sinovial, sí se han observado cuerpos elementales en el líquido y los tejidos de hombres con artritis reactiva adquirida sexualmente. Aproximadamente un 50 a un 65 % de los pacientes con síndrome de Reiter sufren infección genital por clamidias al comienzo de la artritis, y los estudios serológicos sugieren que más del 80 % de los varones con esta enfermedad muestran evidencia de infección previa o simultánea por *C. trachomatis*.

Las secreciones genitales de adultos infectados pueden autoinocularse a las conjuntivas y producir conjuntivitis de inclusión. La conjuntivitis de inclusión en el neonato comienza de 7 a 12 días después del nacimiento y se plantea que alrededor del 50 % de los neonatos provenientes de madres con *C. trachomatis* pueden infectarse al atravesar el canal del parto.

Diagnóstico de laboratorio

Cultivo. Las muestras útiles pueden ser raspados de células epiteliales de la uretra, endocérvix, conjuntiva y las muestras de biopsia de la trompa uterina o del epidídimo, recto y glándulas de Bartolino pueden inocularse a cultivos de células McCoy, tratadas con cicloheximida, para lograr proliferación de *C. trachomatis*.

Después de retirar la secreción del cérvix se recolectan muestras endocervicales. Se realiza raspado de células epiteliales de 1 a 2 cm de profundidad en el endocérvix. Se emplean, además, muestras de vagina, uretra o conjuntiva. Se pueden cultivar muestras de biopsia de trompa uterina o del epidídimo. Los hisopos que se emplean para recolectar las muestras son de plástico recubiertos con dacrón, algodón, rayón o alginato de calcio. Los hisopos de madera son tóxicos para *Chlamydia*. Se hace crecer células McCoy en monocapas sobre cubreobjeto en frascos pequeños de base plana. Las células McCoy se tratan con cicloheximida para aumentar la sensibilidad para el aislamiento de *C. trachomatis*.

El inóculo de la muestra de exudado se centrifuga sobre la monocapa y se incuba a 35 °C durante 48 a 72 horas. Se puede inocular una segunda monocapa; después de la incubación a veces es sonicada y se pasa a otra monocapa para incrementar la sensibilidad. Las monocapas se examinan mediante coloración de Giemsa, Lugol o inmunofluorescencia directa para visualizar las inclusiones citoplásmicas. El cultivo de clamidias por este método tiene una sensibilidad del 80 % y una especificidad del 100 %.

En el recién nacido y en el adulto, en ocasiones la conjuntivitis de inclusión y las inclusiones citoplásmicas en las células epiteliales son tan densas que se les detecta rápido por inmunofluorescencia o por el método de Giemsa o Lugol.

Examen citológico directo (anticuerpo fluorescente directo o DFA del inglés *Direct Fluorescent Antibody*) e inmunoanálisis enzimático (EIA, del inglés *Enzyme-Linked Immunoassay*). Se pueden emplear estas pruebas en laboratorios que no tienen experiencia o instalaciones para efectuar el cultivo. Las muestras se recolectan con técnicas similares a las utilizadas en la recolección de las muestras para cultivo. Algunas pruebas usan muestras de orina. La prueba DFA emplea anticuerpos monoclonales dirigidos contra un antígeno específico de especie sobre la proteína principal de la membrana externa de la clamidia.

El EIA detecta antígenos lipopolisacáridos específicos de género extraídos de los cuerpos elementales en la muestra.

La sensibilidad del DFA es de 80 a 90 % y la especificidad de 98 a 99 %. La sensibilidad del EIA es de 80 a 95 % y la especificidad de 98 a 99 %.

Detección de ácido nucleico. Se emplean las mismas muestras que las que se usan para el cultivo; también se puede analizar la orina. Se utiliza una sonda de ADN quimioluminiscente, la cual hibrida con una secuencia de ARNr 16 S específica de especie de *Chlamydia*. La sensibilidad de este método es de casi el 85 % y su especificidad de hasta el 99 %.

Una prueba para amplificar el ácido nucleico se basa en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y otra en la reacción en cadena de la ligasa (LCR). Estas pruebas son mucho más sensibles que el cultivo.

Pruebas serológicas. En las infecciones por *Chlamydiae* de vías genitales se encuentran anticuerpos en el suero a elevado título. Un aumento del título se presenta durante y después de una infección aguda por *Chlamydiae*. Las pruebas serológicas para diagnosticar las infecciones de las vías genitales por *Chlamydiae*, por lo general se utilizan con fines epidemiológicos para conocer la prevalencia de esta entidad en una población determinada o en pacientes con infecciones genitales complicadas tales como: inflamación pélvica y síndrome de Reiter.

Tratamiento

El tratamiento debe imponerse en ambos miembros de una pareja sexual y en la descendencia para prevenir una nueva infección. En los casos de uretritis no gonocócica y en mujeres con la infección y que no se encuentran embarazadas, el tratamiento con doxiciclina se emplea con frecuencia. La eritromicina se prescribe para las embarazadas y niños.

En los casos de conjuntivitis de inclusión se emplea el tratamiento local con tetraciclinas y eritromicinas, y se puede unir a un tratamiento sistémico.

Epidemiología y control

Las conjuntivitis de inclusión y las infecciones genitales son enfermedades de transmisión sexual. En el recién nacido la conjuntivitis de inclusión se produce al pasar por el canal del parto en el caso de que la madre presente la infección genital. Como ocurre en todas las enfermedades de transmisión sexual, debe considerarse la presencia de otros agentes etiológicos. El control final de esta enfermedad y de todas las de este tipo, depende de prácticas sexuales seguras y de un diagnóstico y tratamiento tempranos en los pacientes infectados.

CONJUNTIVITIS POR CHLAMYDIAE

Epidemiología y control

Descripción: en el recién nacido, es una conjuntivitis aguda con abundante exudado purulento, que suele comenzar de 5 a 12 días después del nacimiento. En algunos lactantes que también tienen infección nasofaríngea, aparece neumonía por *Chlamydiae*. Es importante descartar la infección gonocócica. En los niños y adultos se observa conjuntivitis folicular aguda junto a linfadenopatía preauricular en el lado afectado, hiperemia a menudo con afectación superficial de la córnea. El agente infeccioso puede afectar el epitelio uretral en los hombres y las mujeres, y el cuello uterino en estas últimas. La conjuntivitis a veces acompaña a la uretritis o la cervicitis.

Los métodos de laboratorio incluyen aislamiento y cultivo celular, detección de antígeno por inmunofluorescencia de material en frotis directos o los métodos de inmunovaloración con enzimas o sondas de ADN.

Agente infeccioso: *Chlamydia trachomatis*, serovariantes D a K. Las cepas felinas de *C. psittaci* han causado queratoconjuntivitis folicular aguda en humanos.

Distribución: se notifican casos oculares esporádicos en adultos sexualmente activos en todo el mundo. La conjuntivitis neonatal por *C. trachomatis* es común y afecta del 15 a 35 % de los recién nacidos expuestos a la infección materna. Entre los adultos con infección de los genitales por *Chlamydiae*, uno de cada 300 termina por mostrar oftalmopatía por dicho agente.

Reservorio: en el caso de *C. trachomatis*, el reservorio es humano.

Modo de transmisión: el agente se transmite, por lo común durante las relaciones sexuales. La infección ocular en el recién nacido generalmente se produce por contacto directo al pasar el recién nacido por el canal del parto. Se han notificado brotes entre personas que nadan en piscinas con agua no clorada, aunque tal situación no se ha corroborado por resultados de cultivos.

Periodo de incubación: de 5 a 12 días, con límites de 3 días a 6 semanas en el recién nacido y de 6 a 19 días en los adultos.

Periodo de transmisibilidad: mientras persiste la infección genital u ocular. Se ha observado la persistencia del estado de portador en mucosas hasta 2 años después del nacimiento.

Susceptibilidad y resistencia: no hay datos de resistencia a la reinfección.

Métodos de control

Medidas preventivas. Se deben tomar las siguientes medidas:

1. Uso correcto y constante de condones.
2. Medidas preventivas similares a las de otras enfermedades de transmisión sexual. Prácticas de "sexo seguro".
3. Identificar la infección en mujeres embarazadas que posean factores de riesgo por medio de cultivos o detección de antígenos. Realizar tratamiento en los casos de infección cervicouterina en las embarazadas administrando 500 mg de eritromicina base cuatro veces al día durante 7 días.

4. Poner en práctica las medidas profilácticas sistemáticas contra la oftalmía gonocócica neonatal. Aplicar una sola vez una solución de yodopolivinilpirrolidona al 2,5 % , pomadas oftálmicas de tetraciclina al 1 % o de eritromicina al 0,5 % inmediato después del nacimiento.

Control del paciente, de los contactos y del ambiente inmediato. Hay que considerar los siguientes aspectos:

1. *Notificación a la autoridad local de salud:* la notificación de los casos de recién nacidos es obligatoria en muchos países y estados de los Estados Unidos y Europa.
2. *Aislamiento:* precauciones en cuanto a drenaje y secreciones durante las primeras 96 horas de comenzado el tratamiento.
3. *Desinfección concurrente:* para prevenir la transmisión en las salas cunas, realizar las técnicas asépticas y el lavado de las manos por el personal.
4. *Cuarentena:* ninguna.
5. *Inmunización de contactos:* no es aplicable.
6. *Investigación de los contactos y de la fuente de infección:* deben ser examinadas y tratadas todas las parejas sexuales del adulto enfermo y la madre y el padre del recién nacido infectado.
7. *Tratamiento específico:* en el caso de infecciones oculares y genitales de los adultos, son eficaces la tetraciclina, eritromicina u ofloxacina por vía oral durante 2 semanas. La azitromicina es eficaz en una sola dosis. Se recomienda la administración de eritromicina por vía oral durante 2 semanas para combatir las infecciones oculares del recién nacido y así disminuir también el riesgo de neumonitis por *Chlamydiae*; la dosis es de 10 mg/kg de peso, que se administra cada 12 horas durante la primera semana de vida y cada 8 horas después de ella.

Medidas en caso de epidemia. Control sanitario de las piscinas; basta con la cloración común.

Repercusiones en caso de desastre. Ninguna.

Medidas internacionales. Las orientadas por los centros colaboradores de la OMS.

AFECCIÓN DEL APARATO RESPIRATORIO POR *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*

Entre el 10 al 20 % de los recién nacidos infectados por la madre, pueden desarrollar infección del aparato respiratorio. Se plantea que *C. trachomatis* es uno de los agentes etiológicos de mayor importancia en los casos de neumonía neonatal. El período de incubación es muy variable, aunque la enfermedad suele comenzar entre 2 y 3 semanas después del nacimiento. Se presenta un cuadro clínico con taquipnea notable, tos paroxística peculiar, ausencia de fiebre y eosinofilia.

El diagnóstico se sospecha en un recién nacido con neumonitis que presentó una conjuntivitis de inclusión y se establece, fundamentalmente, por el aislamiento del agente de las secreciones procedentes del aparato respiratorio. La eritromicina sistémica es útil en los casos graves.

Los adultos con conjuntivitis de inclusión con bastante frecuencia desarrollan síntomas de las vías respiratorias superiores. La neumonitis es rara en adultos.

LINFOGRANULOMA VENÉREO

Es una enfermedad de transmisión sexual causada por *C. trachomatis* (L1, L2 y L3) y caracterizada por la inflamación granulomatosa de los ganglios linfáticos inguinales y rectales.

Propiedades del agente

Contiene un antígeno termoestable y uno de tres antígenos específicos (I1 a I3) que pueden determinarse por inmunofluorescencia. Las partículas infectantes poseen un principio tóxico.

Datos clínicos

Varias semanas después de la exposición, se desarrolla una pequeña pápula, la cual, posteriormente, se transforma en vesícula, que crece sobre cualquier parte de los genitales externos y se ulcera. Habitualmente dicha lesión pasa inadvertida y cicatriza en varios días. Más tarde se afectan los ganglios linfáticos regionales, los cuales aumentan de tamaño y son muy dolorosos. En mujeres y varones homosexuales, los ganglios perirectales se encuentran afectados de proctitis con secreción anal mucopiosanguinolenta.

En la etapa de linfadenitis aguda, se presenta, con frecuencia, fiebre, cefalea, meningismo, conjuntivitis, erupciones cutáneas, náuseas, vómitos y artralgias. Como complicación aparecen cuadros de elefantiasis de la vulva y el pene. El proceso inflamatorio crónico puede progresar a fibrosis, obstrucción linfática, estenosis rectal progresiva, obstrucción recto-sigmoidea y formación de fístulas.

Se ha descrito que los serovariantes de linfogranuloma venéreo (LGV) han sido implicados como una causa de conjuntivitis oculoglandular de Parinaud, caracterizada por inflamación conjuntival y adenopatías preauriculares, submandibulares y cervicales.

Diagnóstico de laboratorio

Frotis. Las muestras como el pus, bubones y material obtenido por biopsia deben teñirse y examinarse buscando el agente.

Cultivo. El material sospechoso de contener las partículas de dicho agente infeccioso, se debe inocular en cultivos de células, en sacos vitelinos de huevos embrionados o en encéfalos de ratón. El agente debe identificarse por morfología y pruebas serológicas.

Pruebas serológicas. La prueba cutánea para LGV (test de Frei) sólo tiene interés histórico, puesto que es insensible e inespecífica. El diagnóstico de LGV se basa, actualmente, en la prueba de fijación del complemento.

Se emplea la fijación del complemento para la demostración de anticuerpos de estar presentes. Este test mide los anticuerpos fijadores del complemento, detectados con el antígeno del lipopolisacárido específico de género. En un paciente que se sospeche linfogranuloma venéreo, un título que se eleva de forma progresiva durante la infección o una titulación mayor que 1:64 es indicativo de enfermedad activa de existir síntomas y signos clínicos. Además, se puede usar la inmunofluorescencia.

El resultado positivo de la fijación de complemento carece de especificidad. El resultado negativo permite excluir la infección; sin embargo, no se detectan anticuerpos en las fases precoces de la enfermedad, y el tratamiento antibiótico puede disminuir el título de anticuerpos.

Inmunidad

En los casos en que no se ha impuesto un tratamiento adecuado, la infección tiende a hacerse crónica y el agente puede persistir en las lesiones durante mucho tiempo, incluso años. No se cuenta con datos en relación con la utilidad de la inmunidad activa.

Tratamiento

En las etapas iniciales de la infección se recomienda emplear sulfonamidas y tetraciclinas como tratamiento sistémico. Las etapas tardías requieren tratamiento quirúrgico como en los casos de estenosis, fístulas y elefantiasis. En el caso de existir ganglios fluctuantes, es necesario su aspiración. También deben recibir tratamiento los contactos sexuales del paciente.

Epidemiología y control

La infección se presenta a nivel mundial, aunque es más habitual en países de climas tropicales. Se transmite con mayor frecuencia por contacto sexual. Si se reconoce la infección, el tratamiento con tetraciclina o eritromicina es eficaz. Las medidas empleadas para el control de las enfermedades de transmisión sexual se aplican a esta enfermedad.

INFECCIONES RESPIRATORIAS POR *CHLAMYDIA PNEUMONIAE*

Se reconoce a *C. pneumoniae* como una especie que causa enfermedades respiratorias y que los seres humanos son los únicos hospederos conocidos. La *C. pneumoniae* se aisló por primera vez en la conjuntiva de un niño de Taiwan, al principio se consideró una cepa de psitacosis, debido a la morfología de las inclusiones producidas en los cultivos de células. Más adelante se demostró que el aislamiento de Taiwan estaba relacionado, desde el punto de vista serológico, con un aislamiento faríngeo, conocido como AR-39, y la cepa recibió el nombre de TWAR. Los estudios de homología del ADN han demostrado que la cepa TWAR es una cepa diferente a *C. trachomatis* y *C. psittaci*.

Propiedades del agente

Chlamydia pneumoniae produce inclusiones redondas, densas, negativas a glucógeno y resistentes a las sulfonamidas. Los cuerpos elementales a veces tienen un aspecto piriforme. Sólo se ha demostrado un serovar.

Datos clínicos

La mayoría de las infecciones por *C. pneumoniae* son leves, con tos persistente y malestar general, y no requieren hospitalización. Se cree que la infección es común y se ha demostrado que hasta el 50 % de los individuos presentan anticuerpos contra la bacteria. Se producen enfermedades de las vías respiratorias altas y bajas. Se puede originar, faringitis, sinusitis y otitis media. Se ha reportado una neumonía atípica similar a la causada por *Mycoplasma pneumoniae* como enfermedad primaria. Se plantea que hasta un 30 % de las neumonías adquiridas en la comunidad en pacientes jóvenes son ocasionadas por *C. pneumoniae*.

Diagnóstico de laboratorio

Frotis. No es de utilidad la técnica de anticuerpos fluorescentes.

Cultivo. *C. pneumoniae* crece en las células McCoy y mejor en células HeLa 229, HEp-2 y HL. También prolifera en los sacos vitelinos de huevos embrionados. El crecimiento es mejor a 35 °C. Después de 3 días de incubación, las células se fijan y se detectan inclusiones por tinción con anticuerpos fluorescentes, con anticuerpos específicos a género o especie.

Las muestras de exudado faríngeo deben colocarse en un medio para transporte de clamidias y almacenarse a 4 °C. *C. pneumoniae* crece mejor en células HL y HEp-2 que en células HeLa 229 o McCoy; las células McCoy se emplean ampliamente para cultivar *C. trachomatis*. Para incrementar la sensibilidad del cultivo se añade cicloheximida al medio de cultivo celular para inhibir el metabolismo de células eucarióticas y por la centrifugación del inóculo sobre la capa de células. El crecimiento es mejor a 35 que a 37 °C. Después de 3 días de incubación, las células se fijan y las inclusiones se detectan mediante tinción de anticuerpos fluorescentes, con anticuerpos específicos para género o especie, o con un anticuerpo monoclonal específico para *C. pneumoniae* conjugado con fluoresceína.

La tinción de Giemsa es insensible. Es difícil lograr su cultivo.

Pruebas serológicas. La prueba de microinmunofluorescencia es el método más sensible para diagnosticar la infección por *C. pneumoniae*. La infección primaria produce

anticuerpos IgM después de cerca de 3 semanas, seguidos por anticuerpos IgG hacia las 6 a 8 semanas. El siguiente criterio se ha sugerido para el diagnóstico serológico de infección reciente por *C. pneumoniae*: un título de IgM simple mayor que 1:16; un título simple de IgG de más de 1:512 y un aumento en cuatro veces de los títulos, ya sea de IgM o de IgG.

Puede emplearse la prueba de fijación del complemento, pero es reactiva a grupo y es menos sensible que la prueba de microinmunofluorescencia.

Inmunidad

Pueden producirse infecciones prolongadas por *C. pneumoniae* y ser común la presencia de portadores asintomáticos.

Tratamiento

El germen es susceptible a las tetraciclinas y a las eritromicinas *in vitro*. La dosis óptima y la duración del tratamiento no se han determinado; se ha recomendado tratamiento durante 10 a 14 días y son relativamente comunes los fracasos de la terapia.

Epidemiología

Se plantea que aproximadamente el 50 % de las personas tienen anticuerpos contra *C. pneumoniae*. La infección es endémica y epidémica, con frecuentes brotes. No hay reservorio animal conocido y se supone que la transmisión se realiza de persona a persona, fundamentalmente, a través del aire.

El control de la exposición a *C. pneumoniae* resulta difícil dada la naturaleza ubicua de la bacteria.

CHLAMYDIA PSITTACI Y PSITACOSIS (ORNITOSIS)

C. psittaci es el agente causal de la psitacosis (fiebre de los loros), que puede ser transmitida a los humanos. La enfermedad se describió primero en loros y de ahí el nombre de psitacosis (del griego *psittakus*, loro). Las aves son el reservorio natural de la *C. psittaci*, la infección se puede encontrar en, prácticamente, cualquier especie de ave, así como en reptiles y en las personas. El microorganismo está presente en la sangre, los tejidos, las heces y las plumas de las aves infectadas.

Psitacosis: enfermedad humana causada por *C. psittaci*, adquirida por contacto con aves, y también la infección de aves psitacinas: loros, pericos, cacaúas, etc.

Ornitosis: infección con agentes similares en todo tipo de aves domésticas: pichones, pollos, patos, gansos, pavos, etc.; y aves silvestres: gaviotas, garzas reales, petreles, etc.

Propiedades del agente

En animales y en seres humanos, las tetraciclinas pueden suprimir la enfermedad, pero es posible que no sean capaces de eliminar el agente infeccioso ni terminar con el estado de portador. Los tejidos infectados contienen un principio tóxico, asociado estrechamente con el agente que mata con rapidez a ratones con inyección intravenosa o intraperitoneal.

Los anticuerpos contra antígenos específicos a especie tienen la capacidad de neutralizar la toxicidad y la infectividad. Se pueden realizar pruebas de neutralización cruzada del efecto tóxico. Es factible emplear, además, la neutralización de la infectividad del agente por anticuerpos específicos o protección cruzada de animales inmunizados.

Patogenia y patología

El microorganismo se adquiere por vía respiratoria, con diseminación consiguiente hacia las células reticuloendoteliales del hígado y el bazo. La multiplicación de los

microorganismos en esos lugares provoca necrosis focal. A continuación se produce siembra en los pulmones y en otros órganos, a través de diseminación hematógena, lo que origina una respuesta inflamatoria, predominantemente linfocítica, en los espacios alveolares e intersticiales. Se originan edemas, engrosamiento de la pared alveolar, infiltración por macrófagos y a veces hemorragias en esos lugares. Se forman tapones de moco en los bronquiolos con cianosis y anoxia consiguientes.

El exudado en la psitacosis está constituido por mononucleares. Las lesiones son similares a las que se encuentran en la neumonía causada por algunos virus y micoplasmas.

Datos clínicos

El período de incubación de la enfermedad es aproximadamente de 7 a 15 días. El comienzo es brusco con malestar, fiebre, anorexia, faringitis, fotofobia y cefalea intensa. En los casos graves, los signos y síntomas de bronconeumonía aparecen al final de la primera semana de la enfermedad. Es común la afectación del Sistema Nervioso Central que se suele manifestar por cefalea y en los casos graves encefalitis, convulsiones, coma y muerte. Pueden existir síntomas gastrointestinales como náuseas, vómitos y diarrea. Entre las demás manifestaciones sistémicas cabe citar: carditis, hepatoesplenomegalia y queratoconjuntivitis. En los casos que no han recibido tratamiento pueden presentarse complicaciones que acarrean la muerte en los pacientes, especialmente en las personas mayores de 65 años.

Diagnóstico de laboratorio

Cultivo. Las muestras útiles serían: sangre, esputo, vómitos y tejido pulmonar en los casos más graves. Se inoculan las mismas por vía intranasal, intraperitoneal e intracerebral a ratones, así como en el saco vitelino de embriones de pollo y en cultivos celulares.

Pruebas serológicas. Se recomienda la prueba de fijación del complemento con el antígeno de grupo. Para el diagnóstico de certeza se emplea suero de las fases aguda y tardía. El uso de antibióticos puede retardar la aparición de anticuerpos hasta de 20 a 40 días o suprimir su aparición. En los pacientes con psitacosis, los títulos elevados persisten durante meses e, incluso, durante años en los portadores.

Inmunidad

Después de la recuperación de la enfermedad es probable que se presente un estado de portador por un período de hasta 10 años. El agente puede seguir siendo excretado en el esputo. Las vacunas preparadas con el microorganismo vivo o inactivo no se han empleado en el hombre.

Tratamiento

El tratamiento más efectivo es con tetraciclinas. Las drogas antimicrobianas no erradican el microorganismo del paciente, o sea, el mismo se convertirá en portador. Las cepas pueden desarrollar resistencia a los antimicrobianos empleados.

Epidemiología y control

La inhalación en las heces secas de aves infectadas es una forma común de la infección humana. El manejo de tejidos infectados está descrito como otra fuente de infección para el hombre, además de la inhalación de aerosoles infectados.

Los pájaros conservados como mascotas o aves de ornato, con frecuencia constituyen una fuente importante de infección humana. El control de los pájaros transportados, la cuarentena, las pruebas de los pájaros enfermos para demostrar la infección por psitacosis y las tetraciclinas administradas en forma profiláctica en la comida de las aves, son importantes en el control de la infección. El personal de las granjas avícolas está expuesto a contraer la

infección clínica o subclínica. Los embarques de aves psitácidas deben mantenerse en cuarentena para asegurar que no hay aves enfermas en el grupo. La incorporación de tetraciclinas en el alimento para aves se ha empleado para disminuir la proporción de portadores.

Un riesgo especial para esta infección presentan los veterinarios, los trabajadores de parques zoológicos, los empleados de pajarerías y los obreros de plantas de procesamiento de pollo.

RESUMEN

La familia *Chlamydiaceae* infecta a un amplio espectro de hospederos vertebrados dentro de los tres nichos ecológicos mayores: pájaros, mamíferos y humanos. La característica biológica extraordinaria de la infección por clamidias es el equilibrio que se alcanza, frecuentemente, entre el hospedero y el parásito, por lo que se produce como resultado una persistencia prolongada de la infección.

Se han caracterizado tres especies: *C. trachomatis*, *C. psittaci* y *C. pneumoniae*. Puede obtenerse aislamiento de *Chlamydia* por inoculación de material infectado en huevos embrionados, en líneas celulares seleccionadas de cultivo de tejidos y en animales de experimentación.

El tratamiento con medicamentos eficaces, por largos períodos, logra eliminar las clamidias del hospedero infectado. El tratamiento tardío con medicamentos antimicrobianos en dosis moderadas puede suprimir la enfermedad, pero permite la persistencia del agente infeccioso en los tejidos.

BIBLIOGRAFÍA

- Aristegui FJ. *Chlamydia* as the agent responsible for infections of the upper respiratory tract in children and adults. *Rev Clin Esp* 1998;198 Suppl 1:19-23.
- Barbal JG. *Chlamydia pneumoniae*: association with asthma and cardiovascular disease. Therapeutic interventions. *Rev Esp Quimioter* 1998;11(1):23-8.
- Bavastrelli M. Sexually active adolescents and young adults: a high-risk group for *Chlamydia trachomatis* infection. *J Travel Med* 1998;5(2):57-60.
- Benenson AS. Conjuntivitis por clamidias. *En: Manual para el control de las enfermedades transmisibles. Informe Oficial de la Asociación Estadounidense de Salud Pública* 16ta. ed. Washington DC: OPS. Publicación Científica 564,1997:58-60.
- Black CM. Current methods of laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:160.
- Gnarpe J. Endemic prevalence of *Chlamydia pneumoniae* in subjectively healthy adults. *Scand J Infect Dis* 1991; 23:387.
- Grayston J. A new respiratory tract pathogen: *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. *J Infect Dis* 1990; 161:618.
- . *Chlamydia*, strain TWAR pneumonia, *Ann Rev Med*, 1992; 43:317-23.
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg A. *Microbiología Médica*. 16ta. ed. Traducida de la 21ta. Edición en inglés. Ed. El Manual Moderno. Capítulo 28. Clamidias. 1999:383-95.
- Kauppinen M, Saikku P. Pneumonia due to *Chlamydia pneumoniae*: prevalence, clinical features, diagnosis and treatment. *Clin Infect Dis*, 1995; 21(Suppl 3):S244.
- Kuo CC. *Chlamydia pneumoniae* (TWAR). *Clin Microbiol Rev* 1995; 8:451.
- Morre SA. Monitoring of *Chlamydia trachomatis* infections after antibiotic treatment using RNA detection by nucleic acid sequence based amplification. *Mol Pathol* 1998; 51(3):149-54.
- Balows A et al (eds). Schacher J. Chlamydiae. *In: Manual of Clinical Microbiology*, 5th ed. Washington D.C.: American Society for Microbiology, 1991.
- Soteriades ES. *Chlamydia* infections in female military recruits. *N Engl J Med* 1999;340(3):237-8.
- Thom DH. Infections with *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR, *Clin Chest Med* 1991;12:245-56.
- Zhang JP, Stephens RS. Mechanisms of *C. trachomatis* attachment to host cells. *Cell*. 1992;69:861.



Rickettsias

Natalio N. Svarch Scharager

INTRODUCCIÓN

Estudiadas desde 1909, los organismos conocidos como rickettsias fueron clásicamente caracterizados por ser:

1. Organismos intracelulares, muy pequeños casi en el límite de la resolución de la microscopia óptica.
2. Parásitos absolutos, que se multiplican únicamente en células eucarióticas vivas.
3. Transmitidos en su mayoría a vertebrados por artrópodos, a quienes parasitan.

Por otra parte, desde 1907, se estudiaron organismos de otros tipos de enfermedades, que no requieren intermediarios para su transmisión; son los que hoy conocemos como clamidias, las cuales también tienen las características de ser parásitos absolutos de células eucarióticas. La ubicación taxonómica de estos dos grupos, muy discutida, los incluía entre los virus. La similitud en morfología y parasitismo se expresó en la denominación de neorickettsias para las clamidias, que en medio de un desorden taxonómico recibieron numerosos nombres hasta hace dos o tres décadas atrás.

Hoy, definitivamente, se incluyen estos dos grupos heterogéneos de microorganismos como bacterias.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS RICKETTSIAS

1. Contienen ambos tipos de ácidos nucleicos, ARN y ADN, en la relación de 3,5 a 1, relación similar a la de muchas bacterias.
2. Se multiplican por fisión binaria, como las bacterias. Este modo de multiplicación observado desde hace mucho tiempo, se comprobó completamente estudiándolo en cultivos celulares con microscopia de contraste de fases.
3. Con microscopia electrónica se determinó que tienen pared celular, con estructura igual a las bacterias gramnegativas. La capa del peptidoglicano es pobre. Su lipopolisacárido (LPS), como endotoxina, manifiesta poca actividad cuando es administrado a animales.

4. Poseen ribosomas, lo que significa (y está experimentalmente comprobado) que sintetizan proteínas.
5. Los estudios bioquímicos demostraron actividad metabólica:
 - a) Consumen O₂ y producen CO₂ – respiración.
 - b) No metabolizan la glucosa.
 - c) La oxidación del ácido glutámico se realiza previa fosforilación.
 - d) Solamente con ácido glutámico no se multiplican, pero sí aumenta su supervivencia fuera de la célula eucariótica.
 - e) Se demostró la existencia de una transaminasa glutámico-aspártico que convierte al ácido glutámico en ácido aspártico.
 - f) En condiciones muy especiales sintetizan pequeñas cantidades de proteínas y lípidos.
 - g) Requieren, necesariamente, trifosfato de adenosina para su metabolismo.
 - h) En solución salina, a 0 °C, se inactiva el consumo de O₂ y la producción de CO₂; se recuperan a 33 °C en presencia de difosfopiridina. A 0 °C, no sólo cesa la respiración, sino que también pierde su toxicidad, actividad hemolítica e infectividad; esto se debe a la pérdida progresiva de NAD (nicotinamidos-adenina-dinucleótidos). Estas actividades se recuperan agregando NAD.
 - i) Su pared contiene ácido murámico, como las paredes bacterianas y las de algunas algas verde-azul. Esta pared se disuelve con la enzima lisozima.

No cabe dudas que manifiestan actividad metabólica, lo que explica la sensibilidad a los antibióticos. Estas características corresponden a las bacterias y no a las de los virus.

MULTIPLICACIÓN

En general se multiplican dentro de células eucarióticas que parasitan. No se reproducen en medios inanimados, excepto *Rochalimaea*.

La multiplicación es por fisión binaria, salvo en el género *Ehrlichia*, que parasita a los leucocitos y se reproduce en forma semejante a las clamidias, pasando por tres fases: cuerpo elemental, cuerpo inicial y módulos dentro del leucocito parasitado.

Los organismos del género *Rickettsia* están libres en las células parasitadas. Los de los géneros *Ehrlichia* y *Coxiella* están dentro de las vacuolas.

Las rickettsias del grupo Tifus se localizan en el citoplasma; las del grupo de las fiebres manchadas en el citoplasma y núcleo de las células de las garrapatas, de mamíferos, de aves o de huevos embrionados.

La penetración en las células se realiza mediante un proceso llamado fagocitosis inducida, la cual está dada por la penetración en “fagocitos no profesionales”, estimulada por las propias rickettsias.

Una vez dentro de las células, los organismos pertenecientes al género *Rickettsia* disuelven la membrana del fagosoma por secreción de fosfolipasa A, y quedan entonces libres en el citoplasma. *R. prowazekii* se acumula en las células hasta su destrucción por lisis, provocada por secreción de fosfolipasa A. *R. rickettsii* y *R. tsutsugamushi* son liberadas continuamente mediante largas prolongaciones citoplasmáticas nombradas *filopodias*.

Coxiella vive dentro del fagosoma adaptada al medio ácido por síntesis de fosfatasa ácida. *Ehrlichia* es destruida si los lisosomas se unen con las vacuolas. *Rochalimaea* se multiplica sobre la superficie de las células; son destruidas rápidamente después de la fagocitosis.

Posterior a la penetración en la célula parasitada, en ningún momento deja de observarse la rickettsia dentro de la célula. Falta por completo la etapa de eclipse propia de la infección por virus a células. Esto tiene un profundo significado biológico: la célula rickettsiana mantiene su individualidad y se multiplica; no ocurre esto con los virus.

COLORACIÓN

A pesar de ser consideradas bacilos gramnegativos, se colorean mal con el método de Gram. En cambio se tiñen bien con Giemsa.

En 1937, A. Machiabello, en Chile, publicó un nuevo método de coloración que se hizo clásico. D.F. Giménez, en 1964, modificó esta coloración. Estas tres últimas coloraciones son las más utilizadas.

Se pueden emplear el método de Stamp y las técnicas histoquímicas para ácidos nucleicos, además de las coloraciones de fluorescencia e inmunofluorescencia; estas últimas muy usadas con fines diagnósticos.

Las impregnaciones argentícas en cortes histológicos, según modificaciones actuales como las de Warthin Starry, son útiles para visualizar rickettsias en tejidos.

CULTIVOS

Desde que Cox, en 1938, logró buenos cultivos en saco vitelino de huevo de gallina embrionado, de *R. rickettsii* y después con *R. prowazekii*, esta es la técnica más utilizada. Deben emplearse huevos de 6 a 7 días de incubación de 34 a 36 °C. Si se realizan varias reincubaciones de suspensiones en sacos vitelinos, se pueden lograr concentraciones de *Rickettsia* viables hasta de 10⁹ partículas rickettsianas por mililitro. La primera inoculación no permite visualizar rickettsias.

En cultivos celulares *in vitro*, se lograron cultivos, pero en la práctica sólo se utilizan en estudios metabólicos o experimentales. Las rickettsias necesitan parasitar células con metabolismo bajo, de lenta multiplicación. El consumo rápido para sus metabolitos y sistemas enzimáticos compite exitosamente contra las rickettsias que deben “arrebatar” estos compuestos a las células parasitadas.

Las sulfonamidas estimulan el crecimiento de las rickettsias, su empleo empeora a los enfermos; el ácido p-aminobenzoico (PABA), análogo estructural de las sulfas, inhibe su crecimiento. Esta inhibición es revertida por el ácido p-hidroxibenzoico, que podría ser el metabolito cuya función es interferida por PABA.

ANIMALES PARASITADOS. INOCULACIÓN EXPERIMENTAL

Parasitan insectos: piojos, pulgas, y arácnidos: garrapatas y trombiculos (ácaros) adultos así como en estadios embrionarios, y estos se transmiten a vertebrados, mamíferos y aves.

Coxiella burnetii puede infectar sin necesidad de hospedero intermediario transmisor.

En la naturaleza se encuentran garrapatas parasitadas por rickettsias, y a veces, sin relación aún conocida con animales superiores parasitados. Esto hace que algunos investigadores se pregunten si en estos casos, las propias garrapatas son el reservorio de rickettsias en la naturaleza y no los vertebrados. Hay que tener en cuenta que las garrapatas transmiten rickettsias por vía transovárica a su descendencia y que hay especies de garrapatas que oviponen más de 18 000 huevos.

Otras características biológicas de las garrapatas (Ixodídeas), tanto blandas (Argosíneas) como duras (Ixodíneas), favorecen enormemente su papel de transmisores:

1. No padecen afecciones por las rickettsias que las parasitan; a diferencia de los piojos, por ejemplo.
2. En ellas ocurre el fenómeno biológico no muy habitual, de la superfecundación de una hembra por varios machos.
3. El fenómeno denominado bifásico virginal: la hembra no fecundada no se desprende del vertebrado parasitado por ella.
4. El larguísimo tiempo que la garrapata puede resistir sin alimentarse.

Este fenómeno del superparasitismo (parásito parasitado por otros parásitos) es la esencia del proceso que permite la circulación de los agentes patógenos en las enfermedades de focos naturales.

Las fiebres manchadas, con sus determinismos regionales, son claros ejemplares definitorios de enfermedades rickettsianas de focos naturales.

Hasta 1963, se creía que el hombre era el único vertebrado capaz de infectarse con *R. prowazekii* transmitido por el piojo humano, *Pediculus humanus*.

Bozeman F.M. y colaboradores aislaron a *R. prowazekii* en ardillas voladoras del este de los Estados Unidos.

La transmisión puede ocurrir aplastando los insectos sobre la piel con abrasiones y por aerosoles provenientes de heces de piojos.

MORFOLOGÍA

En primer lugar, son muy pleomórficos: formas cocoides pequeñas (0,5 x 0,5 μ m), cocobacilares, bacilitos reunidos en pares, largas cadenas, diplococos con un halo parecidos a neumococos en miniaturas y formas filiformes muy largas. Realmente no es posible distinguir las en especie por la morfología.

PATOGENIA Y FISIOPATOLOGÍA

El proceso básico de la infección por rickettsias es la vasculitis. Pueden ser introducidas en la sangre durante la alimentación de las garrapatas (*Rickettsia rickettsii*, fiebre manchada de las montañas rocosas; *R. conorii*, fiebre botonosa); durante la alimentación de ácaros (*R. tsutsugamushi*, tífus de los matorrales; *R. akari*, tífus vesiculoso); o por rascado, inoculación de piojos o pulgas infectados mediante sus heces (*R. prowazekii*, tífus exantemático epidémico; *R. typhi* o *R. mooseri*, tífus murino); ya en el torrente circulatorio, las rickettsias penetran preferentemente en las células endoteliales vasculares. No existe un particular tropismo por estas células; es simplemente una consecuencia de su diseminación por el torrente sanguíneo y no debido a un tropismo por receptores específicos.

La aparición precoz de exantema (rash) en tronco o extremidades es el signo característico. La absorción a las superficies celulares y la penetración en las células requieren de la interacción recíproca de células y rickettsias mediante procesos metabólicos. La entrada en la célula necesita de la participación de los microfilamentos y no de los microtúbulos celulares. Se conoce por trabajos experimentales que el gradiente de calcio tiene importancia en la llamada fagocitosis inducida y la salida posterior de las rickettsias de los fagosomas recién formados, para liberarse en el citoplasma. En el caso de *R. prowazekii*, la multiplicación intracelular va seguida por lisis celular; significativamente, poco antes de la lisis en las microestructuras de las mitocondrias y del retículo endoplasmático rugoso, se pueden observar cambios.

La destrucción celular endotelial produce aumento de la permeabilidad vascular, microtrombos, llegada de células sanguíneas mononucleares de la inflamación y muchas veces obstrucción de la luz vascular y microinfartos consecuentes.

Esta vasculitis puede detectarse en casi todos los órganos, piel, pulmón (neumonitis intersticial), miocardio (miocarditis intersticial) y meningoencefalomielitis.

La intensa vasculitis es la causa de las muertes fulminantes en las que no se observan casi infiltrados inflamatorios.

Las vasculitis en las rickettsiasis son el resultado de la lesión directa de las rickettsias sobre las células endoteliales, a diferencia de las vasculitis de otros procesos que responden a procesos de orden inmunitario.

En la fiebre Q, el desarrollo de *Coxiella burnetii* produce una primera lesión endotelial vascular; después se desarrolla un proceso inflamatorio predominantemente por macrófagos y en menor grado por granulocitos neutrófilos y linfocitos. En esta forma se van constituyendo los granulomas que se observan en la fiebre Q. En las infecciones por rickettsias se forman, como respuestas inmunitarias, anticuerpos específicos que, en general, tienen reacciones cruzadas con los antígenos de *Proteus* OX-2, OX-19 y OX-K. Estos anticuerpos forman inmunocomplejos que se representan en las infecciones por rickettsias, pero no con *Coxiella*. En la fiebre Q (*Coxiella burnetii*) no se forman anticuerpos que reaccionan con los antígenos de *Proteus*. En la fiebre botonosa (*Rickettsia conorii*), en casi el tercio de los enfermos se forman, en la primera semana de la enfermedad, inmunocomplejos que van desapareciendo en algunas semanas.

Aunque es frecuente la trombocitopenia en las enfermedades rickettsianas severas, la coagulación intravascular diseminada es rarísima. La conclusión de los estudios es que la formación de trombos se explica suficientemente por el daño endotelial y no por la coagulación intravascular diseminada. La existencia de lipopolisacáridos en la membrana interna de rickettsias no implica que tengan tanta acción como las endotoxinas de otras bacterias gramnegativas, como fue explicado ya al describir la existencia de la pared celular en rickettsias; mas aún la conocida prueba positiva de las endotoxinas con el lisado de hemolinfas de *Limulus*, un crustáceo de Tailandia, es negativa con el suero de pacientes con infecciones rickettsianas o con su líquido cefalorraquídeo. Parece ser que *in vivo* el papel de los macrófagos en la evolución rickettsiana es importante; el interferón gamma los activa para la inhibición de la proliferación de *R. prowazekii*.

Coxiella burnetii (fiebre Q) no infecta los endotelios vasculares; la infección se obtiene, frecuentemente, por inhalación de aerosoles con el agente proveniente de animales de la ganadería o de aves de corral.

Los pacientes presentan bronconeumonías agudas, hepatitis granulomatosa o meningoencefalitis. La infección experimental con voluntarios demostró que a menudo hay infecciones asintomáticas. Hay rickettsemia de 1 a 4 días antes de la aparición de los síntomas.

En pulmón se observa un infiltrado intersticial de células mononucleares y exudados inflamatorios en bronquios y alveolos. En hígado, los granulomas se describen con la imagen que se ha comparado con una "rosca de buñuelo". En el Sistema Nervioso Central se presentan edema endotelial y trombos capilares; no hay infiltrados perivasculares.

La virulencia de *Coxiella burnetii* está vinculada a la existencia de las fases I y II en la aglutinación. Se sabe desde hace tiempo que la fase I corresponde a coxielas patógenas y la II con no patógenas. Hoy conocemos que esto se debe a diferencias en sus lipopolisacáridos (I y II). La fase II se produce por prolongados pasajes en cultivos de tejido. Esta variación I-II es similar a la lisa-rugosa de los neumococos. Químicamente hay diferencia entre ambos lipopolisacáridos.

Se presenta, ocasionalmente, endocarditis por *Coxiella burnetii*, a veces alejada años de una infección anterior.

El desarrollo de granulomas está vinculado a los linfocitos T y es una reacción tipo tuberculínica retardada.

Poco se sabe aún de la enfermedad producida por las especies del género *Ehrlichia*.

La técnica de microaglutinación largamente mostró una especificidad notable, pero la aparición de las técnicas de inmunofluorescencia simplificaron el diagnóstico y desplazaron las trabajosas y largas técnicas de microaglutinación, haciendo más fácil el trabajo y aumentando la especificidad de los resultados.

RICKETTSIOSIS HUMANA

Se clasifican habitual y esquemáticamente las enfermedades humanas producidas por rickettsias en cuatro grupos, a los que se agregan dos más:

1. Grupo del tifus.
 - a) *R. prowazekii* – Tifus epidémico.
 - Enfermedad de Brill-Zinsser.
 - Tifus silvestre.
 - b) *R. typhi* – Tifus murino.
 - *R. mooseri*.
2. Grupo de las fiebres manchadas.
 - a) *R. rickettsii* – Fiebre manchada de las montañas rocosas (FMMR).
 - Variedades regionales: tifus de San Pablo (Brasil) y tifus de Colombia.
 - b) *R. conorii* – Fiebre botonosa del Mediterráneo.
 - Variedades regionales: tifus de Kenya y tifus de la India.
 - c) *R. sibirica* – Tifus de Siberia.
 - d) *R. australis* – Fiebre o tifus de Queensland.
 - e) *R. akari* – Tifus vesiculoso, pustuloso.
 - f) *R. japonica*.

3. Grupo del tifus de las malezas – Tsutsugamushi.
 - a) *R. tsutsugamushi* – Tsutsugamushi o fiebre de los matorrales, o fiebre fluvial japonesa.
4. Grupo de la fiebre Q.
 - a) *Coxiella burnetii* – Fiebre Q.
5. Grupo de las rickettsiosis leucocitarias.
 - a) *Ehrlichia chaffeensis*.
 - b) *Ehrlichia sennetsu* – Fiebre de Sennetsu.
6. Grupo de las *Rochalimaea*.
 - a) *R. quintana* – Fiebre de las trincheras.
 - b) *R. henseli* – Angiomatosis bacilar.

Desde otro punto de vista epidemiológico, se pueden clasificar como sigue, por el vector implicado:

1. Por garrapatas.
 - a) *R. rickettsii* – Fiebre manchada de las montañas rocosas.
 - b) *R. conorii* – Fiebre botonosa.
 - c) *R. australis* – Tifus o fiebre de Queensland.
 - d) *R. sibirica* – Tifus de Siberia.
 - e) *R. japonica*.
 - f) *Coxiella burnetii* – Fiebre Q.
 - g) *E. chaffeensis* – Ehrlichiosis.
2. Por ácaros y trombiculos.
 - a) *R. akari* – Tifus vesicular.
 - b) *R. tsutsugamushi* – Tifus de los matorrales o fiebre fluvial japonesa.
3. Por piojos.
 - a) *R. prowazekii* – Tifus epidémico.
 - b) *R. quintana* – Fiebre de las trincheras.
4. Por pulgas.
 - a) *R. typhi* (*R. mooseri*) – Tifus murino.
5. Sin vector.
 - a) *Coxiella burnetii* – Fiebre Q.

Quedan afecciones sin clasificar hasta estudios definitivos: verdadero o verdaderos transmisores del tifus epidémico silvestre: ¿piojos o ácaros?

Falta confirmar si la garrapata *Amblyomma americanum* es el vector de *Ehrlichia chaffeensis*.

CLASIFICACIÓN

Sigue siendo un problema sin resolver el de la clasificación de las rickettsias. El clásico libro de taxonomía bacteriana, el *Manual de Bergey*, presenta la nueva clasificación de rickettsias y organismos similares, la cual es la siguiente:

Se integran *Rickettsia* con *Bartonella* y *Anaplasma* en el orden Rickettsiales. Este orden incluye tres familias:

1. *Bartonellaceae*.
2. *Anaplasmataceae*.
3. *Rickettsiaceae*.

De estas tres familias, nos interesa aquí la tercera, *Rickettsiaceae*. Esta familia se subdivide en tres tribus:

1. *Wolbachieae*.
2. *Rickettsieae*.
3. *Ehrlichieae*.

A la tribu Rickettsieae pertenecen tres géneros:

1. *Coxiella*, con una especie, *C. burnetii*.
2. *Rickettsia*, a este género lo dividen en tres grupos: Tifus, Fiebres manchadas y Tifus de las malezas.
3. *Rochalimaea*.

Estos tres grupos tienen cada uno especies. *Coxiella* y *Ehrlichia* no tienen grupos (ver Cuadro 40.1).

Cuadro 40.1. Clasificación de las rickettsias (*Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática*)

Orden:		Rickettsiales					
Familia	<i>Bartonellaceae</i>		<i>Rickettsiaceae</i>			<i>Anaplasmataceae</i>	
Tribu	Wolbachieae		Rickettsieae			Ehrlichieae	
Género	<i>Coxiella</i>		<i>Rickettsia</i>			<i>Rochalimaea</i>	
Grupo	Typhus		Fiebre manchada			Scrub typhus	
Especie	<i>C. burnetii</i>	<i>R. prowazekii</i>	<i>R. rickettsii</i>	<i>R. tsutsugamushi</i>		<i>R. quintana</i>	<i>E. canis</i>
		<i>R. typhi (mooseri)</i>	<i>R. conorii</i>			<i>R. henseli</i>	<i>E. sennetsu</i>
			<i>R. sibirica</i>				
			<i>R. akari</i>				
			<i>R. australis</i>				
			<i>R. japonica</i>				

A esta clasificación, diversos autores le han hecho fuertes críticas, que prueban que es una clasificación poco natural. En general se espera que se modifique en breve tiempo (algunos pocos años), según opinión de muchos especialistas en el tema.

Estas críticas no son formales; se basan en similitudes con ácidos nucleicos.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Hay varios niveles de diagnóstico para confirmar la naturaleza rickettsiana de un proceso de enfermedad. En primer nivel, al alcance del médico, está el diagnóstico serológico (indirecto) para investigar la presencia de anticuerpos circulantes.

Históricamente es la aglutinación, reacción rápida, pues en poco tiempo hay respuesta. En países europeos donde eran habituales las rickettsiosis, se usaba esta técnica, de rutina. Es la conocida como reacción de Weil-Felix (1916).

Con la cepa OX-19, en más del 90 % de tifus epidémico era positiva. También es positiva con sueros de pacientes de FMMR. Con la cepa OX-2, los títulos en el tifus epidémico y en el murino son más bajos.

En la FMMR, el título también es más alto con OX-19. En la fiebre botonosa sólo aglutina OX-2. En la fiebre o tifus de Queensland también sólo OX-2. En Rickettsialpox es positivo con OX-19.

En *R. tsutsugamushi* aglutina con la cepa OX-K.

En las recidivas tardías como la enfermedad de Brill-Zinsser, frecuentemente los sueros no aglutinan.

Como en otras pruebas serológicas, el título debe aumentar en el plazo de varias semanas si se trata de una infección. No son raros en tifus epidémicos, títulos de 1/10 000 o más.

Se puede resumir el comportamiento de los sueros de enfermos de las distintas rickettsiosis con los antígenos de *Proteus*:

- | | |
|------------------------------|--------------|
| 1. Grupo del tifus | OX-19 (OX-2) |
| a) <i>R. prowazekii</i> | OX-19 (OX-2) |
| b) <i>R. mooseri (typhi)</i> | OX-19 (OX-2) |
| 2. Fiebre manchada | OX-2, OX-19 |
| a) FMMR | OX-2, OX-19 |

b) Fiebre botonosa	OX-2
c) Fiebre de Queensland	OX-2
d) Rickettsialpox	OX-19
3. <i>R. tsutsugamushi</i>	OX-K
4. Fiebre Q	(-)(-)
5. Fiebre quintana (trincheras)	(-)(-)

Con fines epidemiológicos es posible intentar el aislamiento de rickettsias con inoculación de sangre en el saco vitelino de huevos embrionados (técnica de Cox) con varias reinoculaciones.

La inoculación de animales de laboratorio (roedores), especialmente curieles, permite constatar a veces la llamada reacción escrotal: edema fugaz con eritema de la piel sin fijación del testículo al saco escrotal; en tifus, de la túnica vaginal y del bazo se pueden aislar rickettsias.

Actualmente con mucha más especificidad se utiliza la inmunofluorescencia directa (AFI) y la aglutinación con látex para investigaciones más precisas de tipo serológico.

En la fiebre Q, en serología debe tenerse en cuenta la variación I, II.

Hay pruebas para detectar anticuerpos IgM para enfermos en fase aguda e IgG para los no agudos.

Se han desarrollado buenos métodos de conjugación enzimática (ELISA) y radioinmunoensayos (RIA).

En lesiones cutáneas (presentes en rickettsiosis) pueden obtenerse rápidos y seguros resultados con coloraciones de fragmentos de piel obtenidos por biopsias teñidas con anticuerpos específicos ligados a colorantes fluorescentes que permiten el diagnóstico rápido y específico de Rickettsialpox (*R. akari*) y fiebre botonosa (*R. conorii*), aun ya en el tercer día de la enfermedad.

Microaglutinación. Sobre todo después de los trabajos de P. Giroud en el Instituto Pasteur de París, se difundió en el mundo este método de diagnóstico. Muy específico, pero muy trabajoso, requiere de personal entrenado para su montaje y experimentado para su lectura; esto explica su rápida sustitución cuando se difundieron las técnicas de inmunofluorescencia, enormemente más costosas.

ENFERMEDADES CAUSADAS POR *RICKETTSIA*

- Grupo del tifus.
 - Tifus epidémico.
 - Tifus murino.
- Grupo de las fiebres manchadas.
 - Fiebres manchadas de las montañas rocosas.
 - Fiebre botonosa del Mediterráneo.
 - Tifus vesiculoso (Rickettsialpox).
 - Tifus de Siberia.
 - Fiebre del norte de Queensland.
 - Fiebre japónica.
- Tifus de los matorrales.
 - Tsutsugamushi.
- Fiebre Q.
 - Fiebre Q.
- Grupo de la fiebre de las trincheras (*Rochalimaea*).
 - Fiebre de las trincheras.
 - Angiomatosis epitelioides bacilar (BAP).
 - Peliosis hepática.
- Ehrlichiosis.
 - Enfermedad por *E. chaffeensis*.
 - Enfermedad por *E. sennetsu*.
 - ¿Enfermedad por rasguño de gato?

Tifus epidémico

Agente: Rickettsia prowazekii.

Tiene una gran cantidad de sinónimos, cada uno señala una particularidad de la enfermedad: tifus exantemático, tifus histórico, tifus petequial, tifus petequial clásico, fiebre petequial por piojo, fiebre petequial epidémica, fiebre de la cárcel, fiebre de la guerra, fiebre del hambre, *morbus hungariens*, dermatifus, tabardillo, *fleekfeber*, *epidemic lonse-borne typhus*, *typhus fever*, tifus de los barcos y tifus europeo.

Confundido con la fiebre tifoidea (por *Salmonella typhi*) durante años, sólo en 1837, W.W. Gerhard, en Filadelfia, separó ambas entidades. Para evitar confusiones en ambientes médicos europeos, a la fiebre tifoidea la llaman tifus abdominal.

La enfermedad acompañó las grandes calamidades provocadas por la humanidad, fundamentalmente las guerras, de ahí el nombre de tifus histórico.

Por lo menos desde el siglo v a.n.e., hasta la Segunda Guerra Mundial, acompañó las grandes campañas épicas.

El término tifus proviene del griego **tifos**, que significa brumoso, borroso; es la referencia a la atmósfera sobre los pantanos. Muy gráficamente describe el estado de la conciencia de los enfermos. El término era usado por Hipócrates.

Agente infeccioso: en 1909, C. Nicolle y colaboradores demostraron la transmisión del tifus por el piojo humano. En 1916, H. da Rocha Lima observó pequeños organismos intracelulares en el epitelio del intestino del piojo obtenido del enfermo. Wolbach y Todd demostraron los organismos en preparados histológicos de piel de enfermos, en las células endoteliales de los capilares. También los observaron en cobayos (curieles, canis) inoculados experimentalmente. Weil, inoculando por vía rectal sangre de enfermos a piojos, demostró los organismos descritos en las células epiteliales intersticiales (del piojo). Si se inoculaban cobayos con heces de piojos infectados, su sangre inoculada por vía rectal al piojo, mostraba las rickettsias en las células intersticiales (del piojo). También ocurría lo mismo cuando la inoculación rectal al piojo se hacía con sangre del enfermo. Igual resultado con heces de piojos a piojos. Estaba demostrado que: el material infectante no es el piojo, sino son las heces de piojo; las heces infectadas infectan al cobayo; la sangre de los pacientes infectan al piojo por vía rectal y al cobayo por inyección; se puede establecer la cadena de infección: enfermo → piojo → cobayo → piojo.

El piojo infectado muere hacia el 10mo día de la infección, habitualmente entre 7 y 10 días.

Cuadro clínico

A un período de incubación de 7 días, sigue un comienzo brusco con fiebre, cefalea, escalofríos, mialgia y postración. Al 5to día empieza a aparecer un exantema macular en las axilas que se extiende por el tronco; se van transformando en pápulas y a veces confluyen. El paciente tiene un aspecto con expresión de atontado. El exantema no toma cara, manos ni pies.

La sintomatología nerviosa es muy destacada: intensa cefalea; puede haber espasticidad, agitación psicomotora, estupor, coma. Es frecuente un delirio agitado (más del 80 % de los enfermos) que obliga a usar medios de contención para evitar accidentes; el examen oftalmoscópico permite ver manchas blanquecinas en los vasos retinianos, pequeños; son los conocidos nódulos típicos vasculares. Suele haber edema del nervio óptico.

Este cuadro retiniano se resuelve antes de los 20 días. No existen, comúnmente, modificaciones del líquido cefalorraquídeo.

Hay una leucocitosis de más de 10 000 glóbulos blancos; se observa, por lo general, un aumento de neutrófilos y fuerte desviación hacia formas juveniles (hasta del 80 %). Las enzimas hepáticas pueden elevarse.

La gravedad del cuadro aumenta a partir de los 50 años de edad de los enfermos.

Epidemiología

El vector es el piojo humano, especie *Pediculus humanus*. La infección no es por la picadura. En el piojo enfermo, *R. prowazekii* se encuentra únicamente en la célula del epitelio

intestinal; al lisarse, dejan en libertad las rickettsias que salen al exterior con las heces. El material infeccioso son las heces del piojo infectado. La entrada al hombre se hace por soluciones de continuidad de la piel, en la que penetra material fecal del piojo. Las lesiones por rascado, natural en los parasitados, pueden ser la vía de contaminación. También puede ocurrir por la trituración del parásito en el rascado. Hay pruebas de laboratorio probatorias de la infección de cobayos por aerosoles con polvo de heces de piojos desecadas.

Hasta 1963, este era el ciclo conocido. En ese propio año se descubrió que las ardillas voladoras del continente norteamericano, especie *Glaucomys volans volans*, Linneo, eran portadoras de *R. prowazekii*. Sus exoparásitos, el piojo *Neohaematopium scinropteri* y la pulga *Orchopeas howardi*, también se infectan. Así se conoce hoy otra forma epidemiológica de infección por *R. prowazekii* y su ciclo silvestre en el bosque.

Patogenia

Al proceso patogénico ya tratado, en general, se debe agregar algún detalle particular: *R. prowazekii*, como otras rickettsias, parasitan las células del endotelio de capilares, de pequeñas arteriolas y vénulas. Las rickettsias se multiplican y las células convertidas en un verdadero saco de organismos se lisan. Las rickettsias se vuelcan a la sangre, esto explica la rickettsemia. Los restos de las células constituyen un pequeño foco inflamatorio, naturalmente, leucocitos neutrófilos rodean las células y fagocitan las rickettsias. El pequeño foco leucocitario que rodea a los restos de las células, es rodeado por macrófagos que fagocitan los neutrófilos cargados de rickettsias fagocitadas. Esto constituye el nódulo que es palpable en la piel como una pápula. Si se extrae por biopsia el nódulo, se pueden observar al microscopio las rickettsias. Esto ocurre en los capilares. En los vasos pequeños, cuando el epitelio se destruye, se forma un trombo de fibrina que encierra hematíes, macrófagos y células endoteliales. Los macrófagos fagocitan los hematíes; las células endoteliales se multiplican localmente; esto ocurre en la endoarteria. En el exterior del vaso, se forma una infiltración perivascular de monocitos, que es el llamado *módulo lateral*. La necrosis tipo Fränkel típica es el resultado de la presencia de rickettsias en las células endoteliales de los vaso-vasorum capilares de la pared vascular. Como hay vasos con endotelios en todos los órganos, y el endotelio es la sede de la multiplicación de las rickettsias, se hallan fenómenos de arteritis (vasculitis) en todos ellos, particularmente en piel, encéfalo, testículos, corazón y riñones.

Se explica por este proceso, por qué no se observan inflamaciones clásicas, con infiltración de neutrófilos; esta es muy precoz y muy pasajera; pronto las células “mononucleares” las remplazan. Estos nódulos se observan muy bien en el Sistema Nervioso Central, especialmente en el cerebro, y explican los fenómenos nerviosos que caracterizan esta enfermedad.

Enfermedad de Brill-Zinsser, tifus esporádico. Brill N.E. estudió desde 1898 enfermos que padecían una enfermedad que no podía diferenciarse (en modo fundamental) del tifus, con excepción de:

1. Duración más corta (normalmente el tifus dura alrededor de 2 a 3 semanas).
2. Curva febril más irregular.
3. Puede faltar el exantema (rash).
4. Hay menos complicaciones.
5. Epidemiológicamente, en lo principal, falta el piojo.

La anamnesis era ilustrativa, se trataba de personas inmigrantes, que procedían de países donde existía tifus.

La fiebre se mantenía de 7 a 11 días; en el tifus clásico persiste de 12 a 18 días.

Los anticuerpos (fijación del complemento y reacción de Weil-Felix) en estos eran más precoces (máximo en enfermos, 8vo o 10mo días; tifus clásico, 12do o 18vo días), títulos más altos (enfermos, más de 1/1 000; clásico, menos de 1/100).

Brill publicó en 1910 un trabajo de 221 enfermos. En 1934, Zinsser H., con el estudio de 538 casos, lanzó la hipótesis que la enfermedad era una recrudescencia de la enfermedad clásica, tifus. Esta hipótesis fue ampliamente comprobada. Loeffler y Mooser en 1952 propusieron, para la enfermedad, el nombre de enfermedad de Brill-Zinsser.

Tifus murino

Sinonimia: fiebre petequial por pulgas, fiebre petequial endémica, fiebre petequial de Manchuria, tifus endémico, tipo urbano o de depósitos (bodegas) de Malaya, tifus de pulgas, tifus de ratas.

Los estudios, sobre todo de Mooser, determinaron que era una entidad nueva.

El agente etiológico es *Rickettsia mooseri*. Actualmente hay cierta tendencia a llamarla *R. typhi*. Se multiplica profusamente en el saco vitelino y en pulmones de roedores. Es hemolítico para hematíes de varios animales.

Hospederos: la infección espontánea ocurre en la naturaleza con roedores. Entre rata y rata es transmitido por el piojo de la rata, *Polyplax spinulosis* (*Palyplax spinulosis*) y por la pulga de la rata, *Xenopsylla chespi*. La transmisión de rata a hombre es por *Xenopsylla chespi*.

Los monos, patos, ardillas, ratones diversos, ratas del algodón, cobayos, huevos embrionados, pulgas de gato, ácaros de ratas tropicales, son receptivos. La rickettsia no enferma a la rata: la pulga continúa eliminando rickettsias con las heces por toda su vida. *Pulex irritans* (otra especie de pulgas) es susceptible; este problema no ha sido bien estudiado aún. Cuando el piojo humano es experimentalmente infectado, el proceso es similar al que ocurre con *R. prowazekii*.

Cuadro clínico

El período de incubación varía de 6 a 14 días. Por la clínica solamente, no es posible distinguirlo del tifus epidémico. La mortalidad es mucho menor que en este último. El comienzo es menos aparatoso, los síntomas están más apagados, el exantema dura menos, las lesiones cutáneas son menos abundantes.

La toma cerebral, miocárdica y renal son menores. Las complicaciones del tifus epidémico: parotiditis, otitis media, gangrena de extremidades, furunculosis, necrosis cutáneas, uremia, bronconeumonías, son muy raras. La fiebre cae antes, la recuperación es más rápida.

La enfermedad tiene difusión mundial. Se observa, en general, más en puertos donde abundan las ratas y en ciudades donde se acopian cereales. El mejoramiento sanitario y técnico disminuyó la frecuencia de su aparición.

Fiebre manchada de las montañas rocosas

Sinonimia: fiebre de la montaña, fiebre por garrapatas, fiebre manchada en Brasil, fiebre petequial en Colombia, fiebre manchada en México, fiebre purpúrica de las montañas rocosas, fiebre por picadura de garrapata americana, fiebre por garrapata de San Pablo, fiebre de Tobia de Colombia, fiebre por picaduras de garrapata del nuevo mundo.

El agente etiológico, *R. rickettsii*, tiene algunas características biológicas importantes.

Las rickettsias obtenidas de garrapata pueden tener o no capacidad infectante, que se puede "reactivar" si la garrapata ingiere sangre fresca. Otros experimentos indican que la rickettsia es virulenta sólo cuando metabólicamente está activa.

Hay una amplia gama de animales susceptibles: monos, cobayos, conejos, embriones de pollo, garrapatas de varias especies.

Garrapatas vectores

La garrapata de la madera de las montañas rocosas, *Dermacentor endersoni*.

La garrapata de la estrella solitaria, *Amblyomma americanum*.

La del perro en Norteamérica, *Dermacentor variabilis*.

La del conejo, *Haemophysalis liporipohistria*.

La garrapata castaña del perro, *Rhipicephalus sanguineus*.

Reservorios: liebre (*Lepus americanus*), conejos cola de algodón (*Sylvilagus muttalli*), otros conejos, varias especies de ardillas.

El ciclo en la naturaleza se establece entre reservorios vertebrados-garrapatas-vertebrados, históricamente establecidos. La infección del hombre es un incidente anormal en el ciclo.

Fiebre botonosa del Mediterráneo y otras *Rickettsia conorii*

La clásica fiebre botonosa fue descrita por Conor y Bruck en 1910, en la cuenca del Mediterráneo. Tiene sinónimos que corresponden a variedades geográficas, pero siempre producidas por *R. conorii*: fiebre de Marsella; fiebre sudafricana por picaduras de garrapatas; tifus por garrapata de Kenya; tifus de la India por garrapatas.

Son las enfermedades en que el lugar de picadura se convierte en una lesión leprótica (la *tache noire*, mancha negra); hay un exantema que toma la cara, palmas de las manos y plantas de los pies. Se transmite por garrapatas del perro; el exantema es maculopapular o color púrpuro. Está presente la trombocitopenia; aumento de la transaminasa hepática. La biopsia de piel puede mostrar las rickettsias.

El vector más importante de *R. conorii* es la garrapata habitual del perro, *Rhipicephalus sanguineus*; *Rhipisimus*, *Ixodes ricinus*, *Rhiph. enersi*, *Hyalomma aegypticun*, *Amblyomma hebraeum*, *Rhiph. appendicularis*.

Tifus vesiculoso. *Rickettsialpox*

Sinonimia: rickettsiosis vesicular y varoliforme.

El agente es la *Rickettsia akari*, aislada por Huebner R.J. y colaboradores en 1946.

Es como la fiebre botonosa, una afección en que la lesión inicial, de inoculación, es en este caso en forma de escara (la clásica *tache noire*).

Tifus de Siberia

Sinónimos: rickettsiosis por garrapatas del norte de Asia, fiebre siberiana por picadura de garrapata, ixodorrickettsiosis asiática.

Idrodovski y Galisevich la describieron en Siberia occidental, central y oriental.

Se aisló así un organismo, *Rickettsia sibirica*, similar a las otras del grupo de las fiebres manchadas.

Período de incubación: 3 a 6 días. Fiebre que asciende rápidamente a 40 °C o más, que se mantiene 8 a 10 días y cae en lisis. Casi siempre hay lesión primaria, cutánea de tejido necrótico, con adenopatía regional voluminosa como un huevo de paloma. Al 4to o 5to día aparece el exantema maculopapuloso polimorfo que a veces se vuelve hemorrágico, el cual toma el tronco, palma de las manos y planta de los pies, y a veces el rostro. Los enfermos están somnolientos y confusos; con bradicardia, evolucionan hacia la curación.

El suero del enfermo aglutina al *Proteus* OX-19.

Se transmite por garrapatas de los géneros *Dermacentor* y *Haemophysalis*.

Se encuentran casos en Mongolia. Su reservorio son animales pequeños. Pueden infectarse aves con las mismas garrapatas.

Otros casos ocurren en la zona caucásica (Armenia) y en el Asia central.

Fiebre del norte de Queensland

Sinonimia: tifus por garrapatas de Queensland.

Agente etiológico: *Rickettsia australis*.

La enfermedad es leve, no fatal. El exantema persiste, como promedio, 7 a 5 días.

El suero aglutina a *Proteus* OX-K.

Tifus japonico

Uchida T. y colaboradores aislaron una rickettsia en enfermos de fiebre tipo manchada en Japón en 1992.

No se conoce su vector.

Tsutsugamushi

Sinonimia: fiebre fluvial del Japón, tifus de los matorrales, enfermedad tsutsugamushi, tifus por ácaros, tifus rural, bien estudiada hace más de 100 años en Japón, donde se estableció el vector, el agente etiológico y el roedor reservorio.

La enfermedad está dispersa en el triángulo formado por Japón, India y Australia, y cobró mucha importancia en la guerra en el Pacífico, en la Segunda Guerra Mundial.

Su multiplicación es más lenta que en otras rickettsias. El mecanismo por el cual el cloranfenicol no inhibe su síntesis proteica no se conoce. Puede infectar varias especies de ácaros y de roedores. Los animales de laboratorio corrientes son receptivos, pero el animal de elección es el ratón.

En la biología de *R. tsutsugamushi*, mucho mejor estudiada que otras rickettsias, hay fenómenos no comunes con ellas; incluso los reservorios de tres regiones zoológicas distintas, plantean problemas interesantes y nuevos. Igualmente los climas de sus ecosistemas, son muy diferentes.

En todas las formas, en cada uno de ellos, en cada ecosistema en particular, se cumplen las condiciones para que se comporten como focos naturales de la enfermedad. Esto ocurre en un área enorme que tiene como centro el sudeste asiático. En este territorio *R. tsutsugamushi* encontró numerosos roedores y otros grupos de mamíferos, pero pocas especies de vectores; los ácaros *Leptotrombidium akamushi* y *Leptotrombidium deliensias*, que sólo en su estado de larvas exápodos son parásitos. En zonas más frías, *L. santellaria* y *L. pallida* son los vectores.

No está suficientemente estudiado el problema de los vectores en amplias zonas de la enorme región, hay que estudiarlo mucho más.

Fiebre Q o enfermedad de Derrick-Burnet

Agente etiológico: *Coxiella burnetii*.

No por casualidad se separó en otro género de las rickettsias. Primero, pueden transmitirse sin artrópodos vectores, pero también pueden hacerlo por garrapatas duras (Ixodíneas).

Segundo, no sólo a diferencias de las otras rickettsias son fuertemente resistentes al tiempo y a los factores químicos y físicos.

Tercero, los enfermos no presentan exantema.

Por estas razones, Philip C.B., en 1943, propuso formar con ella un género con el nombre de *Coxiella*.

La enfermedad que produce, estudiada por Derrick en 1937, como nuevo cuadro clínico, fue llamada fiebre Q. Puede ser una afección febril autolimitada, o presentarse como una neumonía atípica primaria, endocarditis, granulomatosis hepática, osteomielitis o diferentes síndromes neurológicos. Se ingiere por inhalación de polvo con excretas de animales infectados o sus secreciones. Es tan virulenta *Coxiella burnetii*, que con una sola célula bacteriana se puede producir enfermedad.

El período de incubación es de alrededor de 20 días. Se presenta con fiebre, escalofríos, mialgias, cefaleas, fatiga. No presenta exantema. A veces, el enfermo no recuerda este episodio primario. La enfermedad puede cronificarse y progresivamente se manifiesta en casi todos los órganos: pulmón, hígado y válvulas cardíacas. Los cuadros neurológicos pueden asociarse con neumonía, hepatitis o endocarditis, o presentarse sin estas asociaciones. La toma del Sistema Nervioso Central se registra en cerca del 10 % de los casos, e incluye cefaleas severas, insomnio, síndrome meníngeo aséptico, encefalitis, trastornos extrapiramidales, estados demenciales, confusión, psicosis maníaca. El examen funcional hepático está alterado en el 85 % de los enfermos. Los estudios inmunológicos pueden hacer

el diagnóstico. Hay pleocitosis del líquido cefalorraquídeo en relativamente bajo porcentaje, pero aumento de proteína en un alto porcentaje. Se aísla el agente en sangre u orina.

No aglutina el suero de los pacientes a *Proteus*. Esta rickettsia es muy resistente a los agentes físicos y químicos.

Se adquiere por aspiración de polvo de lugares infectados por animales, por leche sin hervir o por picaduras de garrapatas duras (Ixodíneas) y blandas (Argosíneas); por piojos, ácaros, pulgas infectadas, estos últimos artrópodos sólo en forma experimental. Infecta una gran variedad de aves silvestres y de corral, al canguro, monos y fieras, incluso murciélagos.

Fiebre de las trincheras

Sinonimia: volimas, fiebre quintana, fiebre de los 5 días, enfermedad de His-Werner, *Skin fever*, *Shank fever* (fiebre de la camilla).

El vector es el piojo humano *Pediculus humanus*. Infecta después de haber picado al enfermo, 5 a 10 días más tarde. El agente se demostró en las heces de los piojos. Infecta, al picar, con su saliva o por regurgitación; se le encontró en el intestino. El piojo no se enferma y sigue siendo infectante toda su vida. No infecta a su descendencia.

Mooser y colaboradores aclararon la naturaleza de la infección en las condiciones de la Segunda Guerra Mundial, en 1948-1949. Pudieron infectar piojos, picando a pacientes en la antigua Yugoslavia. No pudieron infectar animales de laboratorio ni huevos embrionados; tampoco células *in vitro*. Si se logró inyectando material de piojos infectados en la cámara anterior del ojo de conejos y a voluntarios por escarificación de la piel.

Se logró su cultivo en medios sin células, con agar-sangre. El agente se llama, actualmente, *Rochalimaea quintana*.

Otras *Rochalimaea*

Rickettsia henseli está vinculado a bacteriemia persistente en inmunocompetentes. Produce una angiomatosis epitelioide (BAP) en enfermos de SIDA, que ocasiona nódulos subcutáneos, viscerales y mucosos o en la dermis.

Se le atribuye, también, ser la causa de la peliosis hepática en estos enfermos.

Ehrlichiosis

Se implicó a *E. canis*, que produce pancitopenia en ciertas líneas caninas, en enfermedades humanas. Parece infectar por picaduras de garrapatas. La afección se caracteriza por fiebre (96 %), escalofríos (70 %), mialgia (74 %), cefalea (80 %) y antecedentes de picaduras de garrapatas. Hay exantema en el 20 % de los casos, leucopenia en el 61 %, la linfopenia puede ser destacada. Se observan organismos muy pequeños en leucocitos en sangre periférica. Hay trombocitopenia en el 52 %. Aumento de transaminasa hepática. Parece estar implicada *E. sennetsu*, aislada en Japón en 1953; su ciclo de multiplicación es similar al de las clamidias.

En los Estados Unidos más de 200 casos fueron informados en 18 estados; también ha sido informada en Japón, Portugal y Malasia. Se puede cultivar *E. chaffeensis*, *E. sennetsu* y *E. canis* en macrófagos de ratón, línea P388. Se tiñen con Giemsa.

Existe toda la presunción de que la garrapata *Dermacentor* es su vector.

RESUMEN

Las rickettsias son bacilos muy pequeños, gramnegativos, intracelulares, parásitos absolutos, que se transmiten por artrópodos. Considerados al comienzo como virus, igual que las clamidias, no lo son ambos.

Producen enfermedades graves (rickettsiosis). En general, circulan en la naturaleza en ciclos cerrados de vertebrados y artrópodos. Si el hombre se interpone, enferma. (Cuadro 40.2).

Algunas son epidémicas.

A estos principios hay excepciones. *Rochalimaea* se puede cultivar *in vitro*; *Coxiella burnetii* se puede transmitir sin vectores artrópodos (y también por garrapatas).

Una rickettsia infecta, naturalmente, sólo al hombre, no a otros vertebrados: *Rochalimaea quintana* (fiebre de las trincheras), que tampoco es intracelular. Hasta 1963, se suponía que también *R. prowazekii* producía infección sólo en el hombre; desde la fecha citada se sabe que también infecta las ardillas voladoras en la naturaleza.

Casi todas se pueden considerar agentes de "enfermedades de focos naturales".

Responden a antibióticos.

Cuadro 40.2. Rickettsiosis y sus agentes etiológicos

Rickettsias	Vector	Enfermedad
1. <i>R. prowazekii</i>	Piojo humano, <i>Pediculus humanus</i>	Tifus epidémico, enfermedad de Brill-Zinsser y tifus silvestre
2. <i>R. mooseri</i> o <i>typhi</i>	Pulga de rata, por <i>Xenopsylla chespi</i>	Tifus murino o endémico
3. <i>R. rickettsii</i>	Garrapatas duras (Ixodíneas), fundamentalmente <i>Dermacentor</i>	Fiebre manchada de las montañas rocosas
4. <i>R. conorii</i>	Garrapata del perro, principalmente <i>Rhipicephalus</i>	Fiebre botonosa y otras regionales
5. <i>R. sibirica</i>	Garrapata	Tifus de Siberia
6. <i>R. australis</i>	Garrapata	Tifus del norte de Queensland
7. <i>R. japonica</i>		Fiebre japonesa
8. <i>R. akari</i>	Ácaro del ratón	Rickettsialpox, tifus vesiculoso
9. <i>Coxiella burnetii</i>	Con vector: garrapata <i>Dermacentor</i> Sin vector	Fiebre Q
10. <i>Rochalimaea quintana</i>	Piojo humano	Fiebre de las trincheras
11. <i>Rickettsia tsutsugamushi</i>	Ácaros	Fiebre fluvial del Japón (tifus de los matorrales)

BIBLIOGRAFÍA

- Brill, NE. An Acute infec. Dis. Of Unknow Orig. A. Clinical Study based on 221 cases. Am I Med Sci 139(1910):484.
- Cox HR. Use of Yok Lac of Denchoping Chick Embryo as Medicin for Growing Rickettsiae of R.M.S.F. and Typhus Groups. Publ Health Rep 53,1983:2241.
- Haward BJ. y col. Clinical and Pathogenic Microbiology. St Louis: Mosby-Year Book, 1993.
- Hnebnner RJ, Stamp PY, Armstrang C. Rickettsial Pox. A Newly Recognized Rickettsial Disease. Publi Health Ref 61(1946a):1605.
- Murray PR and col. Microbiología médica. Madrid: Hercourt Brance, 1997.
- Nicolle C, Comte C, Conseil E. Transmission esperimentale du typhus exantematique par le pou du corps. C. R. Acad. ss. 149, 486-489-1909.
- Nicolle C, Conseil E, Conon A. Le Tyhus experimentale du cobaye. C. R. Acad. ss. 152, 1632-1633, 1911.
- Rocha Lima H. Sobre la etiología del tifus exantemático (en alemán). Berl. Klin Warch. 33-1916 b; 567.
- W. Michael Scheld, Richard I. Whitley, David T. Durack. Infectons of the Central Vervous System- Raner Press. New York, 1991.
- Weil H. y Felix A. Sobre el diagnóstico serológico del tifus (en alemán). Wien Klin Wachr 29-1916:33.
- Wolbach SB y Todd JL. Notas sobre la etiología y la anatomía patológica del tifus exantemático en México, Am Inst Pasteur, París, 34,1920:153.
- Zoomis. N° 503. OPS (Oficina Latinoamericana Panamericana), 1986.

SECCIÓN IV

Fungus



Generalidades de micología

Silvia Macola Olano

BREVE HISTORIA DE LA MICOLOGÍA MÉDICA EN CUBA

El primer médico cubano dedicado al estudio de los hongos patógenos al hombre fue el doctor Raimundo García-Menocal y García-Menocal, fundador de la cátedra de Enfermedades de la Piel y Sífilis en la Facultad de Medicina de la Universidad de La Habana (1902), que incluyó un capítulo sobre dicha materia en su libro *Manual de Enfermedades de la Piel y Sífilis*, La Habana, 1907.

Sus continuadores en la cátedra, los doctores Braulio Sáenz Ricart, con servicio clínico en el Hospital Nuestra Señora de las Mercedes y Vicente Pardo Castelló, en el Hospital General Docente “Calixto García”, fundaron pequeños laboratorios en dichos servicios donde se practicaba el diagnóstico de las micosis humanas y este último dedicó amplio espacio a tales afecciones en su notable obra *Nociones de Dermatología y Sifilografía*, cuya primera edición apareció en La Habana en 1927.

Al fundarse la cátedra de Parasitología y Enfermedades Tropicales en la Facultad de Medicina de la Universidad de La Habana (1924), su primer profesor, el doctor Andrés García Rivera, incluyó la micología médica como materia a explicar y así aparece en su libro *Lecciones de Parasitología y Enfermedades Tropicales*, publicado en La Habana, 1930, en dos tomos.

Desde los años de la década de 1920 se va a dedicar a estos estudios el doctor César Fuentes Fernández, profesor de la cátedra de Patología Experimental, el cual verdaderamente será el primer médico micólogo del país a cuyo lado se iniciará en esta rama del conocimiento científico el doctor Ramón Vidal Vidal, ambos pioneros de la micología médica cubana.

El doctor Vidal Vidal, profesor del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina de la Universidad de La Habana, a partir de 1962, formará los primeros médicos micólogos del período revolucionario socialista de nuestra historia, inicialmente en su laboratorio del Hospital Docente “Comandante Manuel Fajardo” y después en el del pabellón Gordon del Hospital General Docente “Calixto García”, los cuales llevarán el diagnóstico micológico a todas las provincias del país, entre los que se distinguiría el ya fallecido doctor Enrique Font D’Escoubet en su laboratorio del Hospital “Carlos J. Finlay” de La Habana.

GENERALIDADES DE MICOLOGÍA

El estudio de los hongos comienza antes que el de las bacterias. En 1677, Hooke construye unas lentes y estudia las manchas amarillas de las hojas de una rosa, donde observa que estaban constituidas por organismos filamentosos, los cuales describe en detalle e ilustra con dibujos.

En 1729, Micheli describe el género *Aspergillus* entre otros hongos. En la primera mitad del siglo XIX se realizan progresos en el estudio de los hongos y no es hasta entonces que aquellos parásitos para el hombre comienzan a atraer la atención.

En la actualidad existen aproximadamente de 50 000 a 100 000 especies “aceptadas” de hongos. De las mismas, alrededor de 200 son patógenas a los animales y al hombre bajo ciertas circunstancias; de estas, una pequeña porción puede causar enfermedad en el humano.

Los hongos son microorganismos eucarióticos, aerobios, no fotosintéticos, inmóviles; tienen una pared celular que constituye el 90 % del peso seco del hongo, la cual está constituida de polisacáridos como: quitina, celulosa, glucanas y mananas, entre otros; esto constituye entre el 70 al 80 % y el 10 al 20 % lo forman proteínas y glicoproteínas las cuales son antigénicas y quizá expliquen la reacción mediada por células que se produce frente a los antígenos de *Candida* (candidina) y dermatófitos (tricotifina). Esta pared le imparte al hongo rigidez, actúa como barrera osmótica, determina la forma del microorganismo, es importante en la taxonomía y propiedades antigénicas.

Además, los hongos sintetizan lisina, por biosíntesis del ácido L-aminolípido; tienen microtúbulos compuestos de la proteína tubulina, ergosterol en sus membranas celulares (sitio donde actúan algunos fungistáticos como los polienos e imidazoles bloqueando su formación), centriolo, mitocondria, ribosoma 80 S, núcleo rodeado de membrana, retículo endoplásmico y mitocondrias. Son heterotróficos y la mayoría obtiene sustancias orgánicas preformadas del medio ambiente. Los hongos vierten enzimas hidrolíticas en sus alrededores, las cuales degradan el sustrato en pequeñas subunidades y de esta forma es que ellos lo absorben. Los patógenos humanos poseen las enzimas necesarias para obtener nutrientes directamente del hospedero. El material alimenticio de reserva es el glucógeno.

Solamente algunos hongos poseen cápsula, por ejemplo, el *Cryptococcus neoformans*, compuesta de polisacárido, es antigénica y antifagocítica.

Por lo general, los hongos patógenos no producen toxinas, provocan enfermedades crónicas con lesiones de tipo granulomatosas y son resistentes a los tratamientos. Las micosis superficiales y cutáneas pueden ser crónicas, pero rara vez afectan la salud general, mientras que las profundas sí la afectan y a veces son mortales.

Los hongos son reconocidos en el laboratorio por su morfología macroscópica y microscópica, y de acuerdo con ello se dividen en dos grupos:

1. *Hongos filamentosos*: la hifa o filamento es el elemento primario de estos hongos; son estructuras cilíndricas parecidas a tubos; pueden tener tabiques o septos en número variable o no tenerlos y ser aseptadas o cenocíticas; poseen poros pequeños. Según la forma que adopten pueden ser: vesiculosas, nodulares, pectinadas, en raqueta, en candelabro fávico y otras.

Al conjunto de hifas unidas y entrelazadas se les denomina *micelio*, el cual puede ser aéreo o reproductivo, es el que crece en la superficie del medio de cultivo y donde podemos encontrar las conidias o esporas; el micelio vegetativo o nutritivo es aquel que se introduce en el medio de cultivo para absorber los nutrientes.

En el micelio aéreo se desarrolla la colonia del hongo, que de acuerdo con el género o especie a que pertenezcan van a tener diferentes formas y colores. Así pueden ser: algodonosas, pulverulentas, cerebriformes, crateriformes, etc.; y los pigmentos pueden ser: rojo, carmelita, violeta, verde, amarillo y otros.

2. *Hongos levaduriformes*: forman colonias suaves, cremosas, con pigmentos variados según el género y la especie; pueden ser: blancas, crema, color café, negras; van a estar constituidas por células redondas, ovals o gemantes denominadas *blastosporas* o *blastoconidias*; en algunas levaduras estas células quedan unidas y se alargan formando una especie de filamento denominado *pseudomicelio*. La reproducción es asexual por gemación.

Dimorfos: son aquellos que crecen tanto en la forma filamentosos como en la levaduriforme, dependiendo esto, entre otros factores, de la temperatura a que sean sometidos (25 o 37 °C) y de los nutrientes.

Los hongos se reproducen sexual y asexualmente. Desde el punto de vista médico la reproducción asexual es la más importante, pues la mayoría de los hongos patógenos para el hombre sólo se reproducen de esta forma.

A pesar de que ya se ha encontrado en algunos la reproducción sexual, esta no es fácil de obtenerla en los laboratorios, resultando muy útil y económico identificarlos por su reproducción asexual.

Las esporas asexuales se denominan *conidias*, estas pueden formarse sobre conidióforos especializados, a partir de una hifa o sobre los lados o extremos de estas. Dentro de una misma colonia pueden formarse más de una clase de conidias.

TIPOS DE CONIDIAS O ESPORAS ASEXUALES

1. *Microconidias pequeñas unicelulares*: pueden ser redondas o piriformes.
2. *Macroconidias grandes fusiformes* o en *forma de clava, de tabaco o lápiz*: por regla general septadas o multiseptadas.
3. *Blastosporas* o *blastoconidias*: célula redonda u oval que se reproduce por gemación con separación posterior del brote o yema de la célula progenitora.
4. *Clamidosporas*: las células en la hifa se agrandan y forman paredes gruesas, son resistentes a condiciones ambientales desfavorables y germinan cuando estas condiciones mejoren.
5. *Artriosporas*: una hifa septada que se fragmenta en células individuales.

ESPORAS ASEXUALES

Se producen por meiosis y de acuerdo con su origen pueden ser:

1. *Zigosporas*: fusión de la punta de dos hifas cercanas y se desarrollan esporas grandes de paredes gruesas.
2. *Ascosporas*: dentro de una célula especializada llamada asca se forman de cuatro a ocho esporas.
3. *Basidiosporas*: en la superficie de una célula especializada llamada basidio se forman cuatro esporas.

Existen diferentes clasificaciones de los hongos, está la de Whittaker en 1969, pero para facilitar su ubicación vamos a clasificarlas en cuatro clases, atendiendo al tipo de reproducción.

Hongos perfectos (poseen reproducción sexual y asexual).

Clase: Zygomycetes o Phycomycetes. Esporas asexuales, esporangiosporas; y sexuales, zigosporas, micelio no tabicado. Ejemplo: *Mucor*, *Rhizopus*.

Basidiomycetes. Esporas sexuales, basidiosporas; y asexuales, conidias. Ejemplo: Setas.

Ascomycetes. Esporas sexuales, ascosporas; y asexuales, conidias. Ejemplo: *Nannizzia*, *Arthroderma*, *Emmonsia*.

Hongos imperfectos (poseen solamente reproducción asexual hasta el momento).

Clase: Deuteromycetes. Esporas asexuales o conidias. Ejemplo: *Candida*, *Malassezia furfur*, *Trichophyton*, etcétera.

La mayoría de los hongos patógenos para el hombre se encuentran en esta clase.

METABOLISMO DE LOS HONGOS

Los hongos requieren carbono, nitrógeno y otros elementos. El carbono es usado para la síntesis de carbohidratos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. La oxidación de los mismos proporciona la energía requerida por los hongos; además, secretan enzimas extracelulares como la amilasa, proteasa y lipasa que degradan macromoléculas. El nitrógeno es requerido para la síntesis de los constituyentes celulares como: aminoácidos, proteínas, purinas, pirimidinas, ácidos nucleicos, glucosamina y quitina.

Casi todos los hongos son aerobios, pero algunas levaduras y hongos filamentosos como el *Mucor* son facultativos. Ninguno es anaerobio estricto; pueden tolerar variaciones de pH entre 2 y 10, mas su crecimiento óptimo es alrededor de 7; prefieren un ambiente húmedo, sin embargo, las conidias o esporas pueden sobrevivir en una atmósfera seca; la temperatura óptima para el crecimiento de la mayoría de los hongos es entre 25 y 37 °C, aunque algunos pueden crecer a bajas temperaturas y otros a 45 °C como, por ejemplo, *Aspergillus fumigatus*.

CLASIFICACIÓN CLÍNICA DE LAS MICOSIS

1. *Superficiales* (afectan la epidermis):
 - a) Pitiriasis versicolor.
 - b) Tiña negra palmaris.
 - c) Piedra blanca.
 - d) Piedra negra.
2. *Cutáneas* (afectan la epidermis, dermis, pelos, uñas):
 - a) Dermatofitosis.
 - b) Candidiasis.
3. *Micosis subcutáneas* (afectan la epidermis, dermis, tejido celular subcutáneo; pueden invadir el tejido muscular y óseo. Comúnmente no se observan diseminaciones, ni linfáticas, ni hematógenas):
 - a) Esporotricosis.
 - b) Cromomicosis.
 - c) Rinosporidiosis.
 - d) Micetomas.
 - e) Lobomicosis.
4. *Micosis sistémicas o profundas* (por lo general, la lesión inicial es a nivel del pulmón, diseminándose por vía hematogena a otros sistemas u órganos de la economía):
 - a) Candidiasis (oportunista).
 - b) Criptococosis (oportunista).
 - c) Histoplasmosis.
 - d) Coccidioidomicosis.
 - e) Paracoccidioidomicosis.
 - f) Blastomicosis.
 - g) Aspergilosis (oportunista).
 - h) Mucormicosis (oportunista).

Los hongos que producen micosis subcutáneas y profundas viven libres en la naturaleza y no producen enfermedades contagiosas.

TRANSMISIÓN DE LAS MICOSIS

1. Contacto directo. Ejemplo: dermatofitosis.
2. Penetración a través de heridas en la piel. Ejemplo: cromomicosis.
3. Penetración a través del tracto respiratorio. Ejemplo: histoplasmosis.
4. Penetración por cateterismo intravenoso. Ejemplo: candidiasis.
5. Autoinfección. Ejemplo: pitiriasis versicolor.

RESUMEN

Los hongos son organismos eucarióticos, no fotosintéticos, inmóviles, con pared de quitina; poseen en sus membranas ergosterol; son heterótrofos; producen enzimas hidrolíticas que degradan el sustrato para poderlo absorber; el material de reserva es el glucógeno; algunos poseen cápsula; ocasionan lesiones de tipo granulomatosas; son resistentes al tratamiento.

Pueden ser, según sus características microscópicas y macroscópicas, filamentosos y levaduriformes; se reproducen asexual y sexualmente, resultando la reproducción asexual la

más importante en el reconocimiento de los hongos de importancia médica, pues casi todos los patógenos para el hombre se encuentran dentro de la clase Deuteromycetes u hongos imperfectos, que sólo se le ha encontrado reproducción asexual.

La mayoría de los hongos son aerobios, el pH óptimo es de 7; crecen en ambiente húmedo en el medio de Sabouraud a una temperatura óptima entre 25 y 37 ° C.

Desde el punto de vista clínico y según el lugar que afecten, las micosis se dividen en: superficiales, cutáneas, subcutáneas y profundas o sistémicas.

BIBLIOGRAFÍA

- Bonifaz A. *Micología Médica Básica*. 1ra ed. México D.F.: Ed. Fco. Méndez Cervantes, 1990.
- Brooks GF, Butel JS, Orston LN, Jawetz E *et al.* *Medical Microbiology*. 19th ed. San Francisco: Lange Medicalbook, 1991.
- Emmons ChW, Binford ChH, Utz JP. *Medical Mycology*. 2nd ed. Philadelphia: Lea Fibeger Ed., 1971.
- López R, Méndez LJ, Hernández F, Castañón R. *Micología médica*. 1ra. ed. México D.F.: Ed. Trillas, 1995.
- McGinnis MR, Tilton RC. *Fundamentals of Mycology*. *En*: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF *et al.* *Clinical and Pathogenic Microbiology*. 2nd ed. St Louis: Mosby Ed., 1994:543.
- Mims J, Playfair J, Roitt I *et al.* *Microbiología Médica*. 2da ed. España: Harcourt Brace Ed., 1999.
- Romero Cabello R. *Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas*. 2da ed. México D.C.: Ed. Médica Panamericana, 1999.



Immunología de las micosis

**Gerardo Martínez Machín
Mayda R. Perurena Lancha**

INTRODUCCIÓN

La prevalencia de las micosis se ha incrementado dramáticamente en los últimos años. Un adecuado conocimiento de los mecanismos defensivos que le permiten al hospedero normal contrarrestar estas enfermedades y lo que ocurre en los pacientes que las padecen, es de trascendental importancia para trazar oportunas estrategias diagnósticas y terapéuticas.

En este capítulo se revisan los principales mecanismos de defensa innatos y adquiridos que integran las defensas del hospedero contra los hongos patógenos, y se incursiona, de manera más detallada, en los mecanismos que operan en algunas de las micosis más frecuentes en nuestro medio.

MECANISMOS DE RESISTENCIA NATURAL A HONGOS PATÓGENOS

BARRERAS FÍSICAS, MECÁNICAS Y QUÍMICAS

La piel y las membranas mucosas sirven como excelentes barreras físicas contra hongos, sin embargo, los mecanismos exactos por los cuales estos tejidos previenen el establecimiento de enfermedades fúngicas no están bien establecidos.

La protección natural de la piel y membranas mucosas es evidente, por el hecho de que los hongos que causan micosis subcutáneas no establecen una infección, sino que son implantados en el tejido profundo a través de un trauma. No obstante, aun después de iniciada la infección, las defensas químicas y celulares del hospedero desempeñan un importante papel previniendo la diseminación a otros tejidos.

En el caso de los hongos patógenos sistémicos, los cuales entran al hospedero a través del tracto respiratorio, la acción de la mucosa y los cilios previenen o limitan el número de partículas infectivas que logran penetrar a los espacios alveolares. Si ellos no entran a los pulmones, dejan de ser una amenaza al hospedero.

Un ejemplo de defensa química son determinadas sustancias que se encuentran en la saliva y en el suero humano, las cuales inhiben el crecimiento de *Cryptococcus neoformans* y limitan la capacidad de multiplicación de *Candida albicans* e *Histoplasma capsulatum*.

Se han encontrado proteínas como la transferrina, que inhibe la replicación extracelular de estos agentes micóticos al secuestrar el hierro que los mismos necesitan para su metabolismo.

MECANISMOS DE RESISTENCIA CELULAR

Cuando los agentes micóticos evaden las barreras mecánicas, físicas y químicas, logrando entrar en los tejidos, entonces las defensas celulares comienzan a actuar. Dos grupos de células tienen el potencial de interactuar con estos microorganismos. Un grupo está compuesto de las células fagocíticas profesionales como leucocitos polimorfonucleares (PMNL), macrófagos y monocitos, y otro grupo de células efectoras no fagocíticas como las células asesinas naturales (NK).

Como la célula efectora es el primer contacto que el microorganismo tiene una vez que entra al hospedero, el tipo de célula depende un poco del sitio de entrada. De este modo, las diferencias en la defensa celular natural en las distintas regiones del cuerpo, pueden influir en el establecimiento y progresión de la enfermedad micótica.

CÉLULAS FAGOCÍTICAS PROFESIONALES

Las células fagocíticas contribuyen de forma muy activa a la resistencia celular natural contra la mayoría de las enfermedades micóticas.

Los fagocitos pueden destruir las células micóticas intracelular y extracelularmente. Para que esto ocurra, se requiere que las células fagocíticas se unan a las células fúngicas. La unión puede ser mediada a través de una o más interacciones ligando-receptor.

Leucocitos polimorfonucleares (PMNL). Estos desempeñan un importante papel en la defensa del hospedero contra *Aspergillus* ssp. e infecciones sistémicas por *Candida albicans*.

Son las células efectoras más efectivas para destruir al hongo, pero no son, siempre, las primeras en reconocerlo, pues las mismas normalmente no están presentes en grandes cantidades en los tejidos. Los PMNL son atraídos al sitio de infección por sustancias quimiotácticas producidas por el hongo o que resultan de la activación del complemento por vía alternativa. *Candida albicans*, *Blastomyces dermatitidis* y *Rhizopus oryzae* producen factores quimiotácticos, y otros como *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum* y *Paracoccidioides brasiliensis* activan el complemento por vía alternativa.

Cuando un hongo entra al tejido, puede estimular los macrófagos locales u otras células para producir citoquinas. Ciertas citoquinas pueden inducir la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio vascular. Esto permite la unión de los PMNL a las células endoteliales, lo cual es prerrequisito para su entrada a los tejidos. Una vez en el sitio de infección, los PMNL deben dar muerte al hongo a través de la unión de las células fúngicas con los receptores de superficie de los PMNL. Se ha reportado que CD₁₈ es el ligando responsable en los neutrófilos humanos para la unión con células levaduriformes de *H. capsulatum* no opsonizadas. Para las células de *C. neoformans* encapsuladas la opsonización con C₃ es esencial para su fagocitosis.

Los mecanismos por los cuales los PMNL eliminan al hongo pueden ser divididos en dos categorías: los dependientes y los no-dependientes de oxígeno. Los mecanismos oxidativos tienden a contribuir más a la protección contra el hongo que los no oxidativos; esto se evidencia por el incremento de la incidencia de infecciones por *C. albicans* y *Aspergillus* ssp. en individuos que padecen de deficiencias en los mecanismos oxidativos de sus PMNL. Otro hecho que apoya esa afirmación es que los neutrófilos y monocitos que contienen mieloperoxidasa, son más efectivos en la eliminación del hongo que los macrófagos que carecen de esta sustancia.

También ciertas características del hongo pueden bloquear la actividad de los PMNL. El agente micótico puede tener una superficie que no es reconocida por los PMNL. La cápsula de *C. neoformans* es un ejemplo, pues esta inhibe la fagocitosis por los PMNL. También

se ha reportado que la pseudohifa de *C. albicans* produce un compuesto inhibitorio, el cual inhibe la degranulación de los PMNL.

Macrófagos. Los macrófagos alveolares son las primeras células efectoras naturales que van a encontrar los agentes micóticos que entran a través de las vías respiratorias. Su acción fungistática o fungicida puede ser determinante para el establecimiento o no de una infección micótica. Estas células son capaces de fagocitar conidias de *Aspergillus*, microconidias y células levaduriformes de *H. capsulatum*, *C. neoformans*, *C. albicans*, *P. brasiliensis*, *B. dermatitidis*, artroconidias y endosporas de *C. immitis*.

Los macrófagos limitan el crecimiento de *C. neoformans* intra y extracelularmente cuando penetran al pulmón. Se ha reportado que su acción es más efectiva en células no capsuladas opsonizadas.

CÉLULAS EFECTORAS NATURALES NO FAGOCÍTICAS

Células asesinas naturales (NK). Se ha reportado que las células NK pueden ejercer un efecto inhibitorio sobre múltiples agentes micóticos como *H. capsulatum*, *C. neoformans*, *P. brasiliensis*, *B. dermatitidis*, *C. immitis* y pseudohifas de *C. albicans*.

Estudios de las interacciones hongo-células NK, han evidenciado dos patrones de actividad antifúngica. El primero es la muerte directa del hongo por estas células y el otro es un efecto indirecto sobre el hongo mediado por las células NK. La muerte directa del hongo por células NK se ha estudiado en *C. neoformans*. La asociación de células NK a este hongo se produce a través de múltiples microvellosidades. Una vez establecida esta unión, las células NK ejercen su efecto letal sobre *C. neoformans* mediante un proceso de exocitosis, liberando gránulos que contienen citolisina en el sitio de unión.

El efecto indirecto se ha evidenciado en estudios de protección contra *C. albicans*, al demostrarse que la unión de las células NK con esta levadura, estimula la producción de linfoquinas, que pueden activar los PMNL y monocitos, potenciando su eficiencia como células efectoras naturales.

MECANISMOS DE INMUNIDAD HUMORAL EN LAS INFECCIONES MICÓTICAS

La inmunidad mediada por anticuerpos en las infecciones micóticas es un tema polémico. En la literatura se recogen múltiples estudios cuyos resultados apoyan o niegan su importancia en la protección del hospedero, y en la actualidad no existe consenso ni a favor ni en contra del papel de la respuesta inmune natural, para ninguna de las principales micosis que afectan al humano.

La importancia de la inmunidad mediada por anticuerpos contra un patógeno se infiere de uno o más de los siguientes criterios:

1. Correlación entre la presencia de anticuerpos específicos y protección contra la infección.
2. Prevención o modificación del curso de la infección por la administración de anticuerpos.
3. Asociación de la susceptibilidad a la infección con la deficiencia de anticuerpos.

MECANISMOS DE PROTECCIÓN CONTRA LOS HONGOS MEDIADOS POR ANTICUERPOS

La mayoría de la información disponible deriva de estudios realizados para *C. albicans* y *C. neoformans*.

La inmunidad mediada por anticuerpos puede contribuir a la protección del hospedero contra *C. albicans* interfiriendo con su adherencia a las células epiteliales, favoreciendo la fagocitosis mediante opsonización, neutralizando proteasas extracelulares e inhibiendo la transición de levadura a micelio.

Para *C. neoformans* estos mecanismos operan: contribuyendo a la opsonización, favoreciendo la presentación de antígeno (como resultado de una fagocitosis más eficiente), incrementando la eficacia de las células efectoras y reduciendo la concentración tisular de polisacárido capsular.

Para otros hongos patógenos es menor la información disponible, pero se conoce que la inmunidad mediada por anticuerpos puede contribuir a la protección potencializando la fagocitosis, neutralizando productos importantes para la invasión tisular (proteasas y fosfolipasas) e interfiriendo con la adherencia.

MECANISMOS DE ESCAPE DE LOS HONGOS A LA RESPUESTA HUMORAL

Las dificultades en establecer el papel de la inmunidad mediada por anticuerpos en la mayoría de las infecciones micóticas, sugiere que los hongos son resistentes, escapan o neutralizan los efectos de los anticuerpos.

1. En contraste con las bacterias, los hongos suelen ser resistentes a la lisis mediada por complemento probablemente por el mayor grosor de su pared celular.
2. Muchos hongos producen proteasas que degradan las inmunoglobulinas.
3. Las variaciones antigénicas pueden facilitar el escape de los hongos de la inmunidad mediada por anticuerpos.
4. Produciendo sustancias inmunomoduladoras y que inducen tolerancia inmunológica.

Los hongos de importancia médica son organismos muy diversos; el papel de la inmunidad mediada por anticuerpos puede ser diferente en cada caso, por lo que las generalizaciones en este sentido no son aceptables. Para *C. albicans*, *C. neoformans* y *Pneumocystis carinii*, la inmunidad mediada por anticuerpos parece desempeñar un importante papel en la protección. Para *A. fumigatus*, *H. capsulatum*, *C. immitis* y *B. dermatitidis*, las evidencias en favor o en contra de la participación de los anticuerpos en las defensas del hospedero no son concluyentes y requieren de futuros estudios.

MECANISMOS DE INMUNIDAD MEDIADA POR CÉLULAS EN INFECCIONES MICÓTICAS

Muchos hongos patógenos, que causan infecciones sistémicas, son reconocidos patógenos intracelulares. Para ser contrarrestados eficientemente es necesario que el hospedero tenga capacidad para desarrollar una adecuada respuesta inmune mediada por células (IMC). Evidencias clínicas también apoyan el papel de la IMC en las formas mucocutáneas de algunas infecciones (candidiasis). Además, es frecuente que la inducción y(o) expresión de esta inmunidad se encuentre suprimida, al menos transitoriamente, durante las formas graves de algunas de estas enfermedades.

La respuesta inmune mediada por células es una cascada de eventos biológicos que involucra numerosas células del hospedero y productos solubles (citoquinas) que regulan sus interacciones y activación.

La actividad fungicida intracelular de los macrófagos se ha vinculado a su activación por el $\text{INF}\gamma$, pero depende tanto del hongo como del hospedero. Es conocido que los macrófagos murinos son fungicidas para *P. brasiliensis*, *C. immitis*, *B. dermatitidis* y *C. albicans*, pero sólo fungistáticos para *H. capsulatum*. En contraste, los humanos tienen actividad fungicida contra *H. capsulatum* y *C. immitis*, pero solamente fungistática para *P. brasiliensis*, por lo que no deben hacerse generalizaciones al respecto.

Cuando se establece una adecuada respuesta, la IMC potencializa la eliminación del hongo del tejido hospedero; sin embargo, cuando está alterada o suprimida, favorece su persistencia y(o) diseminación.

Uno de los mayores avances de la inmunología en los últimos tiempos ha sido el demostrar que los linfocitos CD4^+ (Th0) pueden dar origen a una subpoblación de células Th1 , la cual produce IL-2 , $\text{TNF}\gamma$ y TNF ; o a una subpoblación Th2 que produce IL-4 , IL-5 ,

IL-6 e IL-10. En general, si un microorganismo o un inmunógeno estimulan al macrófago para producir IL-12 y la proporción IL-12: IL-4 favorece a la primera, entonces las células NK son estimuladas a producir INF γ , lo cual resulta en una respuesta Th1. De otra parte, si IL-4 es la que predomina, se favorece una respuesta Th2.

En la actualidad se ha demostrado que en un hospedero inmunocompetente, durante el proceso infeccioso, los hongos inducen preferentemente una respuesta Th1 que brinda protección; sin embargo, la extensión y efectividad de esta respuesta en la protección contra diferentes hongos patógenos puede variar dependiendo de la ruta de infección, el tejido infectado, la predisposición genética del hospedero e, incluso, de la cepa del hongo involucrado.

Esta dicotomía Th1/Th2 ha sido estudiada en *C. albicans*, *C. neoformans*, *H. capsulatum* y *P. brasiliensis*, entre otros.

DERMATOFITOSIS

La dermatofitosis es la infección de tejidos queratinizados, como pelos, uñas y el estrato córneo de la piel, por hongos dermatófitos. Una importante característica de estos hongos como parásitos es su restricción a tejidos muertos. En general, no invaden tejidos profundos aun cuando los pacientes están severamente inmunocomprometidos. Estos hongos parecen tener una interacción única con el sistema inmune.

Los pasos iniciales en la patogenia de las infecciones cutáneas involucran la capacidad de los microorganismos para vencer los factores de resistencia innata permitiendo una adhesión inicial, seguido por la competencia con la microbiota normal y la posterior colonización de las superficies celulares.

Las barreras físicas como el estrato queratinizado intacto de la piel y superficies mucosas, así como el efecto de la luz UV, factores fisicoquímicos de temperatura, humedad y pH, y los ácidos grasos fungistáticos de la piel, desempeñan un importante papel en la resistencia contra estos microorganismos.

Múltiples estudios *in vitro* han demostrado que la progesterona y otros compuestos relacionados, producen inhibición del crecimiento de *Trichophyton* y *Microsporum* al retardar el crecimiento de las hifas. Esto pudiera explicar la mayor frecuencia de dermatofitosis en los hombres.

Aunque los dermatófitos y otros hongos que causan lesiones cutáneas, están generalmente limitados a las capas más superficiales de la piel, algunas de estas infecciones producen intensa reacción inflamatoria y se observan múltiples cambios, entre los que se destacan: eritema, formación de vesículas y pústulas (Kerión). Al microscopio se ven neutrófilos acumulados en el sitio de las lesiones inflamatorias agudas, mientras que en las más crónicas predominan las células mononucleares. Neutrófilos y monocitos/macrófagos son parte importante en las defensas del hospedero, ambos tipos de células son capaces de atacar directamente al hongo y producir su destrucción por múltiples mecanismos.

Se ha reportado que en conejos vacunados con cepas vivas atenuadas de *T. verrucosum*, existe una producción de anticuerpos. La importancia de estos para su protección es aún desconocida.

Generalmente el único mecanismo que utilizan los dermatófitos para producir enfermedad es por medio de sus antígenos. Estos se difunden a través de la piel y los vasos sanguíneos hasta ponerse en contacto con los órganos linfoides secundarios, allí los linfocitos T son sensibilizados y desencadenan un proceso de hipersensibilidad mediada por células, con exteriorización, sobre todo, cutánea. Uno de los parámetros claves determinantes de la respuesta inmune contra los antígenos de los dermatófitos es el tipo de citoquina producida por las células T. El INF γ (Th1 citoquina) está involucrado en el desarrollo de la hipersensibilidad retardada a mediación celular que es, a su vez, responsable de las manifestaciones cutáneas asociadas con las dermatofitosis y de gran importancia en las defensas del hospedero contra la infección.

Las dermatofitosis se dividen en dos tipos desde el punto de vista clínico e inmunológico. Las primeras son producidas por hongos zoófilos y geófilos, los cuales producen una intensa reacción inflamatoria y reacción cutánea positiva a la tricofitina. Esta reacción inflamatoria elimina gran cantidad del estrato córneo afectado y, por tanto, de dermatófitos y

tienden a la curación espontánea, generalmente no se hacen crónicas. La otra forma clínica es causada por agentes antropofílicos, los que despiertan escasa reacción inflamatoria, la prueba cutánea casi siempre es negativa, siguen un curso crónico y jamás curan espontáneamente.

CANDIDIASIS

La candidiasis puede adoptar múltiples formas de presentación en dependencia del estado inmune del hospedero. En general, existen dos formas principales de la enfermedad: la sistémica y la mucocutánea.

Es evidente que tanto los mecanismos de defensa innatos (no específicos) como los adquiridos (específicos) intervienen en la protección contra esta enfermedad, pero no existe consenso en relación con la importancia relativa de cada uno de ellos. En los últimos 25 años ha prevalecido el concepto de que los neutrófilos, son en primera instancia, responsables de la resistencia del hospedero contra las formas diseminadas y que la inmunidad mediada por células es el mecanismo primario para prevenir la infección mucocutánea. Los anticuerpos, por su parte, han sido largamente ignorados.

La alta incidencia de candidiasis en pacientes neutropénicos y en aquellos con defectos funcionales de PMNL, sugiere que los mismos desempeñan un papel determinante en las defensas del hospedero contra estas infecciones. Los neutrófilos son capaces de fagocitar y destruir blastosporas de *Candida* bajo determinadas condiciones *in vitro*. La forma filamentosa (hifas) es capaz de resistir la fagocitosis, pero los PMNL pueden adherirse a las células y producirles daño mediante la liberación de citolisinas.

Los macrófagos alveolares también producen destrucción de las blastosporas y lo hacen con mayor efectividad que los macrófagos peritoneales. El mecanismo exacto por el cual operan es aún impreciso. La forma filamentosa de este hongo es más resistente a la destrucción por los macrófagos y los PMNL, lo que sugiere que es más patógena.

Al igual que con las bacterias, los macrófagos, monocitos y neutrófilos del hospedero fagocitan y destruyen las blastoconidias del hongo. Por un proceso similar, estas células de la respuesta inflamatoria se adhieren a la superficie de las formas filamentosas (hifas) que no pueden ser completamente fagocitadas y ejercen su efecto fungicida.

En su unión a *C. albicans*, los PMNL generan sustancias citotóxicas oxidantes (O_2 , H_2O_2 y HOCL) que son fungicidas. El bloqueo de su producción impide la destrucción del hongo por los PMNL intactos. Así mismo los PMNL de pacientes con enfermedad granulomatosa crónica hereditaria que carecen del sistema de la mieloperoxidasa no son capaces de ejercer su efecto fungicida.

Las observaciones iniciales de que los pacientes con diferentes formas clínicas de candidiasis presentaban elevados títulos de anticuerpos (precipitinas y aglutininas), en ocasiones superior a los del grupo control, llevó a la suposición de que estos no desempeñan un importante papel en las defensas del hospedero contra esta micosis. La respuesta humoral en las infecciones por *Candida* es heterogénea, lo cual se corresponde con la complejidad antigénica de este microorganismo. Los anticuerpos específicos son, generalmente, una pequeña porción del total de inmunoglobulinas presentes en el suero. Sin embargo, se ha demostrado que anticuerpos específicos, dirigidos contra un número limitado de epítopes, pueden ser protectores aunque estos no sean producidos en cuantía suficiente para lograrlo.

Evidencias recientes, sugieren la existencia de anticuerpos protectores. Hasta el 90 % de los pacientes con candidiasis sistémica generan anticuerpos dirigidos contra un antígeno inmunodominante de 47 kDa. Además, los pacientes que se recuperan de la enfermedad diseminada seroconvierten a este antígeno, mientras que los pacientes que fallecen producen una respuesta mínima o nula. Actualmente se conoce que este antígeno es parte de la proteína de choque térmico (HSP) de 90 kDa.

Estudios experimentales en modelos murinos, han demostrado que anticuerpos humanos anti-HSP de 90 kDa generan protección contra la forma diseminada de la enfermedad, y que anticuerpos monoclonales que reconocen esta proteína son también protectores.

Una de las principales evidencias del papel que puede desempeñar la inmunidad mediada por anticuerpos contra *C. albicans*, ha sido obtenida recientemente al comprobarse que

un suero inmune y un anticuerpo monoclonal, que reconocen una fracción del manano (responsable de la adherencia de *C. albicans*), son capaces de prolongar la supervivencia y reducir el número de unidades formadoras de colonia (UFC) en el riñón de ratones inoculados por vía intravenosa. De dos anticuerpos monoclonales obtenidos, sólo uno fue protector, por lo que se demostró de esta manera la importancia de la especificidad de los anticuerpos en la protección. Este anticuerpo protector incrementa la interacción entre los PMNL y *C. albicans*, favoreciendo la fagocitosis y acción fungicida de los mismos.

La importancia de la inmunidad mediada por células en la protección contra las formas mucocutáneas de candidiasis, es sugerida por numerosas observaciones clínicas. Pacientes con defectos congénitos (síndrome de Di George, enfermedad granulomatosa crónica) o adquiridos (SIDA) de la inmunidad mediada por células, son, particularmente, susceptibles a esta, pero no a las formas diseminadas de la enfermedad. Estudios experimentales recientes han brindado argumentos en favor de esta afirmación. Para ambas formas clínicas el desenlace final está ligado a la subpoblación de linfocitos CD4+ que se induzca. Un predominio de la respuesta al desarrollo de células Th1 favorece una respuesta protectora y resistencia a la enfermedad, una respuesta al predominio Th2 se asocia a susceptibilidad. Ratones genéticamente resistentes desarrollan una respuesta Th1 después de la inoculación con células viables de *C. albicans*. Esta dicotomía de las células Th en ratones con candidiasis brinda un terreno potencial para estudios de inducción de una adecuada respuesta a la infección mediante el control de la expresión de la subpoblación de células Th.

Regular la actividad de las citoquinas *in vivo* puede representar una de las estrategias para favorecer la protección. La neutralización de las citoquinas asociadas a una respuesta Th2 (IL-4 e IL-10) fue suficiente para inducir una respuesta Th1. La administración exógena de estas citoquinas incrementa la susceptibilidad en ratones genéticamente resistentes. Sin embargo, la administración de IFN γ y de IL-12 no induce protección.

CRIPTOCOCOSIS

Cryptococcus neoformans es causa de graves infecciones pulmonares y del Sistema Nervioso Central, especialmente en pacientes inmunodeprimidos. Entre sus principales factores de virulencia se encuentran la cápsula polisacárida y la actividad de la enzima fenoloxidasa.

La cápsula tiene, entre otras, funciones antifagocíticas y antiinflamatorias; la primera resulta de una actividad de enmascaramiento, al no permitir el reconocimiento de las proteínas opsónicas, unidas a sitios antigénicos de la superficie celular, por los fagocitos. A su vez, el exceso de polisacárido circulante neutraliza los anticuerpos impidiendo que estos potencialicen la fagocitosis mediante la opsonización. La segunda se ha inferido de las reacciones hísticas observadas en respuesta a la inoculación experimental. Las cepas fuertemente capsuladas inducen la formación de masas gelatinosas en diferentes órganos (pulmón, hígado, riñón y cerebro) sin reacción tisular acompañante. Las cepas débilmente capsuladas inducen respuesta inflamatoria con formación de granulomas y presencia de linfocitos, macrófagos y células gigantes. La fenoloxidasa interviene en la síntesis de melanina, la cual ejerce una actividad antioxidante a la vez que contribuye a la integridad de la pared celular.

La baja frecuencia de infección sintomática en contraste con la elevada tasa de exposición a *C. neoformans*, sugiere que las barreras físicas y la inmunidad no específica brindan adecuadas defensas que protegen al hospedero contra la infección. En efecto, se ha comprobado que el suero humano y de otros mamíferos inhibe el crecimiento de este patógeno y que el de las aves carece de esta actividad. Este factor suero no ha podido ser caracterizado, pero se conoce que es destruido mediante tratamiento con tripsina, no es dializable y no se relaciona con anticuerpos específicos ni con el complemento. En contraste con el suero, el LCR carece de esta actividad.

Cryptococcus neoformans es también un potente activador del sistema del complemento. La vía de activación depende de la presencia de anticuerpos específicos y del grado de encapsulación de las levaduras. Las células con poca cápsula son capaces de producir activación del complemento tanto por vía clásica como por la alterna, mientras que las muy

encapsuladas sólo lo hacen a través de esta última. Estudios de opsonización en cepas con diferencias en el tamaño de sus cápsulas, han evidenciado que la fagocitosis es dependiente de la magnitud de esta. Las cepas poco capsuladas fueron opsonizadas eficientemente mediante la vía alterna, mientras que las más capsuladas sólo fueron fagocitadas en presencia de anticuerpos específicos.

La importancia del sistema del complemento como mecanismo de defensa inespecífico contra *C. neoformans* fue establecida al demostrarse que deficiencias genéticas de este, se asociaban a elevada tasa de mortalidad en ensayos animales.

Existen evidencias convincentes de que los PMNL pueden fagocitar y destruir al *C. neoformans* pero, a pesar de su aparente eficacia, estas células no suelen estar presentes en los sitios de infección por este hongo y la neutropenia no se ha asociado a una mayor frecuencia en la criptococosis.

Las células NK son capaces de inhibir el crecimiento *in vitro* de *C. neoformans* y su depleción en modelos murinos se asocia con un incremento en el número de UFC en el pulmón durante el inicio de la infección. Otros estudios *in vivo* e *in vitro* sugieren que las células NK intervienen en la protección contra esta levadura, pero la importancia relativa de su participación en las defensas del hospedero es incierta.

El macrófago es la célula que desempeña la principal función en la defensa contra *C. neoformans*, y a diferencia de otras, los estudios histológicos muestran, de modo consistente, su presencia en los sitios de infección en íntima asociación con las levaduras. *In vitro*, la fagocitosis del hongo por los macrófagos no conlleva, necesariamente, a su muerte intracelular, por lo que se ha cuestionado su efectividad como célula efectora. En la actualidad se conoce que su actividad fungicida es dependiente del grado de activación y que con una estimulación adecuada se comportan como células efectoras eficientes.

Estudios recientes sugieren que los anticuerpos pueden desempeñar un importante papel en la protección contra *C. neoformans*. La más importante de estas evidencias se obtuvo en ensayos de transferencia pasiva de anticuerpos monoclonales antipolisacárido capsular, utilizando modelos murinos. Tres grupos de investigadores independientes han demostrado que la administración de estos anticuerpos prolonga la supervivencia y(o) reduce el número de unidades formadoras de colonia por gramo de órgano en infecciones experimentales. Sin embargo, también se han descrito anticuerpos monoclonales no protectores y otros que exacerban el curso de la infección.

Los estudios con anticuerpos monoclonales anti-*C. neoformans* han revelado gran complejidad en la relación estructura-función, tanto la especificidad del epítipo que reconoce como el isotipo del anticuerpo son determinantes en su función. Dos anticuerpos monoclonales IgM, obtenidos de una misma célula B, pero con especificidad diferente por mutaciones somáticas en sus regiones variables, diferían en su capacidad de protección. El papel del isotipo del anticuerpo en la protección fue demostrado inequívocamente al convertir un anticuerpo monoclonal IgG3 no protector en un IgG1 protector. La eficacia protectora de isotipos murinos contra *C. neoformans* disminuye en el orden IgG2a> IgG1> X> IgG2b> IgG3.

El mecanismo exacto por el cual los anticuerpos median protección contra *C. neoformans* es desconocido, pero parece operar potencializando la respuesta inmune celular al actuar como opsoninas, disminuir los títulos de polisacárido circulante y contribuir a la formación de granulomas.

La importancia de la inmunidad mediada por células en la protección contra *C. neoformans* está bien establecida. Las principales evidencias se han obtenido de estudios experimentales en animales demostrando que: la depleción de células T se asocia con un incremento de la susceptibilidad, los modelos murinos con deficiencia congénita de células T son más susceptibles a la infección y la protección puede ser inducida mediante la transferencia de células T. La asociación de criptococosis con otras enfermedades que cursan con daño primario o adquirido de la inmunidad mediada por células en humanos, es una fuerte evidencia adicional en favor de la importancia de esta inmunidad.

Los mecanismos exactos mediante los cuales las células T ejercen su función no están totalmente dilucidados, aunque se dispone de abundante información de su participación en casi todos los aspectos que permite obtener una respuesta exitosa; activación de las células efectoras, acción directa sobre las levaduras, regulación de la generación y función de los anticuerpos y contribución en la formación de granulomas.

HISTOPLASMOSIS

La exposición a *H. capsulatum* origina, generalmente, una infección pulmonar subclínica o autolimitada, lo cual sugiere la existencia de adecuados mecanismos de defensa en el hospedero inmunocompetente.

Estudios recientes relacionados con las defensas naturales del hospedero contra *H. capsulatum*, han confirmado la actividad fungicida de los PMNL contra este agente en modelos murinos. Los PMNL humanos fagocitan y lisan las células levaduriformes en etapas tempranas de la infección. Otras células efectoras inespecíficas, las NK, también participan en la protección según se infiere de experimentos en los cuales se demuestra un aumento de la susceptibilidad a la infección en ratones depletados de estas células.

El macrófago es el fagocito más importante en la protección del hospedero contra este agente, principalmente cuando se encuentra activado y su función es esencial como parte de los mecanismos de defensa contra *Histoplasma*. La actividad fungicida de estas células contra los hongos patógenos intracelulares se asocia a su activación por el INF γ . Sin embargo, el mecanismo por el cual el macrófago activado ocasiona la muerte de la célula fagocitada es incierto.

Como respuesta a la infección, en el humano se producen títulos de anticuerpos detectables mediante diferentes técnicas. Esto ha permitido desarrollar métodos serológicos de gran utilidad como auxiliares en el diagnóstico. La función exacta de estos anticuerpos como parte de los mecanismos de protección no está bien establecida.

Como parásito intracelular, *H. capsulatum* induce una IMC que es, a su vez, el principal mecanismo de defensa del hospedero contra este microorganismo. Evidencias sobre lo anterior han sido obtenidas de múltiples ensayos:

1. Los linfocitos de ratones inoculados con dosis subletales de este agente, median supresión del crecimiento intracelular en macrófagos normales.
2. Las líneas de ratones atímicos congénitos y los ratones normales tratados con suero antilinfocitos, muestran una mayor susceptibilidad a la enfermedad.
3. La inmunidad contra *H. capsulatum* puede ser transferida por células esplénicas o peritoneales de un donante inmunizado a ratones normales.

En efecto, un modelo de infección pulmonar en ratones, que reproduce la infección en humanos, fue utilizado para evaluar el papel de las citoquinas y se demostró que, en condiciones normales, *Histoplasma* estimula una respuesta Th1 en el pulmón la cual es protectora y dependiente de la IL-12 e INF γ . Otro estudio que correlaciona la producción de citoquinas con la progresión o regresión de la enfermedad, evidenció que la producción del INF γ y del factor de necrosis tumoral (TNF α) están finamente reguladas y son independientes. La neutralización de cada una de ellas por separado mediante el uso de anticuerpos específicos no afecta la producción de la otra, pero sí exacerba la enfermedad.

RESUMEN

Los mecanismos de resistencia natural del hospedero son la primera línea de defensa contra agentes micóticos, sin embargo, estas defensas no son, generalmente, suficientes para una completa protección. El hospedero necesita de la respuesta inmune para proporcionar la actividad antifúngica adicional necesaria para una máxima protección. En ocasiones, uno o más mecanismos pueden ser dominantes sobre otros; sin embargo, a menudo es necesario una combinación de estos y una estrecha interrelación entre mecanismos innatos y adquiridos para lograr una adecuada protección. Los mecanismos de resistencia natural deben actuar temprano y de manera coordinada en la enfermedad, para eliminar o prevenir la proliferación y diseminación del hongo a otros tejidos. Los mecanismos efectoros naturales son, por lo general, eficaces para desarrollar las defensas inmunes más efectivas. En la medida que las defensas naturales y las defensas inmunes son reguladas a través de las citoquinas, estos sistemas proporcionan al hospedero una adecuada protección contra los agentes micóticos.

BIBLIOGRAFÍA

- Calderone R, Diamond R, Senet JM, Warmington J et al. Host cell-fungal cell interactions. *J Med Vet Mycol*, 1994;32(suppl. 1):152-68.
- Casadevall A, Cassone A, Bistoni F, Cutler JE et al. Antibody -and/or cell- mediated immunity, protective mechanisms in fungal disease: an ongoing dilemma or an unnecessary dispute? *Med Mycol*, 1998;368(suppl. 1):95-105.
- Casadevall A. Antibody Immunity and Invasive fungal Infections. *Infection and Immunity*. Nov. 1995: 4211-18.
- Dromer JE, Murphy W, Deepe S, Franco M. Immunomodulation in the mycoses. *J Med Vet Mycol*, 1992;30(suppl. 1):157-66.
- Fukasawa Y, Cassone A, Bistoni F, Howard DH. et al. Mechanism of cell mediated immunity in fungal infection. *J Med Vet Mycol*, 1994;32(suppl. 1):123-32.
- Fukasawa Y, Kagaya K. Host defense mechanisms against fungal infection. *Microbiological Sciences*. Vol. 5(4):1988.
- Kagaya K, Watabnabe K, Fukazawa Y, Suzuki S et al. Biochemical mechanisms of intracellular killing of fungi. *J Med Vet Mycol*, 1992;30(suppl. 1):179-96.
- Kappe R, Levitz M, Cassone A, Washburn RG. Mechanism of host defense against fungal infection. *J Med Vet Mycol*, 1992;30(suppl. 1):167-77.
- Kwon-Chung KJ, Kozel TR, Edman JC, Polacheck I et al. Recent advances in biology and immunology of *Cryptococcus neoformans*. *J Med Vet Mycol* 1992;30(suppl 1):133-42.
- Murphy JW. Mechanism of natural resistance to human pathogenic fungi. *Ann Rev Microbiol* 1991;45:509-38.
- Murphy JW, Wu-Hsieh BA, Ssinger-Vermes LM, Ferrante A et al. Cytokines in the host response to mycotic agents. *J Med Vet Mycol* 1994;32(suppl. 1):203-15.
- Murphy JW, Bistoni F, Deepe GS, Blackstock RA et al. Type I and Type II cytokines: from basic science to fungal infections. *Med Mycol*, 1998;36(suppl. 1):109-18.
- Ogawa H, Summerbell RC, Clemons KV, Sohnle PG et al. Dermatophytes and host defense in cutaneous mycoses. *Med Mycol* 1998;36(suppl. 1):166-73.
- Polonelli L, Poulain D, Cole GT, Conti S et al. New strategies in vaccination against fungal infections. *J Med Vet Mycol*, 1994;32(suppl. 1):105-12.
- Richard JL, DeBey MC, Chermette R, Pier AC et al. Advances in veterinary mycology. *J Med Vet Mycol*, 1994; 32(suppl. 1):169-87.
- Stevens DA, Domer E, Ashaman B et al. Immunomodulation in mycoses. *J Med Vet Mycol*, 1994;32(suppl. 1):253-65.
- Stevens DA, Walsh TJ, Bistoni F, Cenci E et al. Cytokines and mycoses. *Med Mycol* 1998;36(suppl. 1):174-82.



*Malassezia furfur, Piedraia hortae,
Trichosporon beigeli
y Phaeoannellomyces werneckii*

Silvia Macola Olano

MALASSEZIA FURFUR

La *Malassezia furfur* (*Pityrosporum orbiculare u ovale*) es un hongo levaduriforme, lipofílico, aunque algunos autores, como López Martínez R., lo consideran dimorfo. Forma parte de la flora comensal del hombre y el paso de comensal a patógeno parece asociado con el cambio de la fase del hongo de levaduriforme a filamentoso, aunque se desconoce el estímulo de este proceso.

Se localiza en zonas seboreicas de la piel como: cuero cabelludo, regiones retroauriculares, alas de la nariz, y zona superior del manubrio esternal.

La *M. furfur*, cuyo nombre genérico fue creado por Baillon en 1889, es el agente etiológico de la pitiriasis versicolor. Gordon en 1951 cultivó un hongo levaduriforme al cual denominó *Pityrosporum orbiculare* y sugirió que este pudiera ser el agente etiológico de la pitiriasis versicolor. A su vez, el *Pityrosporum ovale* encontrado con frecuencia en dermatitis seboreica, fue descubierto en 1913 y su crecimiento *in vitro* es similar al *P. orbiculare*. Por pruebas indirectas de anticuerpos fluorescentes se ha llegado a la conclusión de que los tres nombres reflejan diferentes formas morfológicas de un mismo hongo y que, por lo tanto, son idénticos. Algunos autores sugieren que se le llame *Pityrosporum furfur*.

El género *Malassezia* incluye dos especies: la *M. furfur*, patógena para el hombre; y la *M. pachydermatis*, patógena para los animales.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

En los pacientes portadores de pitiriasis versicolor, microscópicamente se observan células levaduriformes redondas de 4 a 8 μm de diámetro agrupadas en racimo, con filamentos gruesos cortos, que pueden ser rectos o ligeramente angulares de 2 a 4 μm de diámetro.

En la dermatitis seboreica, las células levaduriformes son alargadas, en forma de botella, de 3 a 5 μm de diámetro.

Las colonias en medio de Sabouraud, al cual se le agrega en la superficie aceite de oliva o sales biliares con 10 % de glicerol, aparecen cremosas, amarillentas y lisas.

PATOGENIA Y DATOS CLÍNICOS

Las escamas del hongo son transmitidas de persona a persona directa o indirectamente a través de fomites.

La pitiriasis versicolor es una infección superficial crónica de la piel que ocasionalmente envuelve los folículos pilosos. En la mayoría de los pacientes cursa de forma asintomática, considerándose de importancia desde el punto de vista cosmético.

En algunos pacientes la lesión es más activa, se acompaña de zonas enrojecidas y en ocasiones prurito. Las lesiones varían de color de acuerdo con la pigmentación de la piel del paciente. En la blanca son hipercrómicas (carmelitas) por aumento de tamaño de los melanosomas, y en los de piel oscura son hipocrómicas, lo cual se debe a la disminución en la producción de melanina. Las mismas se caracterizan por parches maculares, con finas escamas hipercrómicas o hipocrómicas que se agrandan y pueden concluir formando extensas manchas, y se exacerban con la exposición al sol. Se localizan con frecuencia en tronco, cuello, brazos, espalda y abdomen.

Entre los factores que pueden predisponer a padecer esta micosis están: el uso de corticoides, predisposición genética, defectos en la producción de linfocinas, exceso de sudación, malnutrición, alta humedad y temperatura, poca higiene, terapia inmunosupresora y uso de aceites u otros lípidos en la piel.

La dermatitis seborreica es otra entidad que se asocia con frecuencia con la *M. furfur* (*P. ovale*). Las lesiones son eritematosas, afectan el cuero cabelludo y cara, transformándose después en descamativas y pruriginosas.

La *M. furfur* ha sido asociada a otras afecciones tales como: foliculitis, blefaritis, peritonitis y fungemia en niños que han recibido por vía endovenosa emulsiones grasosas.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Productos patológicos. Escamas de las lesiones obtenidas por raspado con bisturí estéril.

Examen directo. En una lámina portaobjeto, se coloca una gota de hidróxido de potasio (KOH) al 10 % o lactofenol azul de algodón, o dimetilsulfóxido o azul de policromo, y se mezcla con la muestra obtenida cubriéndose con la lámina cubreobjeto.

Lámpara de Wood. Se coloca la lámpara sobre la lesión y se observa que la misma fluoresce de un color amarillo-naranja. Esto sugiere que los ácidos dicarboxílicos producidos por la *M. furfur* pueden tener un efecto citotóxico sobre los melanocitos y ser responsables de la hipopigmentación.

Cultivo. Se cultiva en el medio de Sabouraud con antibióticos y una capa de aceite de oliva, a temperatura de 37 °C. Esta técnica de laboratorio no se utiliza de rutina por ser suficiente la observación en la lámpara de Wood y el examen microscópico directo.

EPIDEMIOLOGÍA

Es una enfermedad de distribución mundial, se observa con más frecuencia en países tropicales con clima cálido y húmedo. Afecta por igual al hombre y la mujer, sobre todo adultos jóvenes.

TRATAMIENTO

Tolnaftato, Whitfield con azufre, sales de selenio y los derivados imidazólicos como: clotrimazol, miconazol, econazol o ketoconazol.

PIEDRAIA HORTAE Y TRICHOSPORON BEIGELII

Piedraia hortae (piedra negra) y *Trichosporon beigeli* (piedra blanca), son agentes etiológicos de micosis superficiales crónicas que afectan el pelo, formando nódulos más o menos duros adherentes, negros (piedra negra) y blancos (piedra blanca), distribuidos en la superficie del pelo. No invaden el folículo piloso ni producen alopecia. La infección es asintomática.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Piedraia hortae

Al examen microscópico se observan hifas carmelitas, ramificadas, dicotómicas, de paredes gruesas septadas, ascas, ascosporas con apéndice terminal unidas por un cemento negro.

Cultivo. En el medio de Sabouraud a temperatura ambiente, se desarrolla lentamente una colonia acuminada, lisa, negra o carmelita oscura, aterciopelada.

Trichosporon beigeli

Microscópicamente se observan artrosporas, blastosporas, hifas hialinas tabicadas dentro de una sustancia gelatinosa.

Cultivo. En el medio de Sabouraud a temperatura ambiente, se desarrolla una colonia elevada, blanda, de color crema, con aspecto de levadura. Aparece en 3 o 4 días. Pasadas 1 o 2 semanas, la colonia se torna gris amarillenta.

DATOS CLÍNICOS

En la piedra negra se advierten en los pelos, nódulos oscuros de 1 a 2 mm de diámetro, duros, distribuidos como una vaina formando un manguito alrededor del pelo, al cual se adhiere firmemente. La afección se localiza con mayor frecuencia en los pelos de la cabeza, aunque también se ha encontrado en los de la barba.

En la piedra blanca se observan a lo largo de la superficie de los pelos, pequeños nódulos blanco- amarillentos de 1 a 1,5 mm de diámetro, de consistencia variada, fusiformes u ovals. Estos nódulos forman cadenas irregulares que son más abundantes en el extremo distal del pelo afectado y fáciles de desprender del mismo. La lesión se localiza en los pelos del bigote, axila, barba, pubis y cuero cabelludo.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Productos patológicos. Extirpar los pelos afectados con pinza estéril.

Examen microscópico. Se coloca la muestra con una gota de KOH al 10 % o dimetilsulfóxido entre el cubre y portaobjeto. Se calienta ligeramente.

Cultivo. En el medio de Sabouraud sin antibióticos ni antimicóticos cuando se trate de una piedra blanca. Para la piedra negra se utiliza medio de Sabouraud cloranfenicol ciclohexamida temperatura ambiente 2 semanas.

EPIDEMIOLOGÍA

Es una enfermedad cosmopolita. Se ha reportado en diferentes zonas del planeta, aunque es más frecuente en el continente americano (América Central y del Sur). Se ve en zonas de clima tropical, muy lluviosas.

TRATAMIENTO

Rasurar el pelo de la zona afectada, bicloruro de mercurio, miconazol o ketoconazol.

PHAEOANNELLOMYCES WERNECKII

Phaeoannellomyces werneckii (*Exophiala werneckii* o *Cladosporium werneckii*) es un hongo levaduriforme con pigmento negro, productor de la tiña negra palmaris, micosis superficial asintomática, cuya localización más frecuente es la palma de las manos.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Al microscopio se observan hifas de trayecto tortuoso, color café, de alrededor de 5 µm de diámetro con gran número de ramificaciones. Las hifas están formadas por células redondas u ovales. Al cultivo en el medio de Sabouraud cloranfenicol ciclohexamida crece lentamente entre 15 y 21 días. Las colonias al principio son levaduriformes, blancas grisáceas, de superficie brillante; después adquieren un aspecto veloso y van tomando un color verde oscuro a negro.

PATOGENIA Y DATOS CLÍNICOS

El mecanismo de infección se desconoce, pero al parecer ocurre por el contacto directo con el hongo, que aunque no se ha aislado en la naturaleza, se cree que su hábitat sea el suelo, los detritus vegetales y la madera de zonas tropicales.

Las lesiones se localizan en la palma de las manos, con más frecuencia, aunque pueden aparecer en los dedos y el dorso de las manos, y más raramente brazos y planta de los pies.

La lesión, por lo general, es única, macular, muy superficial, de color carmelita o negro; esta pigmentación es más intensa en los bordes; son, además, irregulares, poco descamativas, no pruriginosas, ni inflamatorias e indolorosas, y se parece a una mancha con nitrato de plata.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Previa limpieza de la zona afectada con alcohol al 70 %, se raspa con bisturí estéril.

Examen directo. Puede utilizarse KOH al 10 %, la muestra se coloca entre el cubre y portaobjeto, y se observan hifas de trayecto tortuoso tabicadas con pigmento carmelita, esporas, clamidosporas; el extremo distal de la hifa es hialino.

Cultivo. Sabouraud cloranfenicol cicloheximida temperatura ambiente donde crecen con lentitud entre 15 y 21 días. Las colonias son brillantes y finalmente toman un color negro. Al observar al microscopio un fragmento de micelio, se encuentran levaduras con tabique central y extremos terminados en punta.

EPIDEMIOLOGÍA

Se ve con más frecuencia en adultos jóvenes. Su mayor incidencia ocurre en zonas tropicales, de América Central, del Sur, el Caribe, Asia y las costas de África.

Se ha señalado a la hiperhidrosis como factor predisponente en esta micosis.

TRATAMIENTO

Se utiliza tratamiento local como: azufre al 5 %, ácido salicílico al 2 %, tintura de yodo, Whitfield, ketoconazol o miconazol.

RESUMEN

La pitiriasis versicolor (*Malassezia furfur*), la piedra blanca y negra (*T. beigeli*, *P. hortae*) y la tiña negra palmaris (*P. werneckii*) son micosis superficiales; la primera afecta la piel; las otras dos, el pelo; y la última, la palma de las manos con más frecuencia; todas, por lo regular, son asintomáticas.

La pitiriasis versicolor está ampliamente distribuida en el mundo; se presenta con frecuencia en países tropicales; su diagnóstico se basa en el examen microscópico directo y la observación de la lesión bajo la lámpara de Wood. Existen factores predisponentes que facilitan su aparición.

En la piedra blanca, en la superficie del pelo se adhieren nódulos blancos y en la piedra negra, nódulos negros; la lesión de las manos en la tiña negra palmaris es macular, de color negro y bordes irregulares.

El diagnóstico en estas tres últimas micosis se establece a través del examen directo y el cultivo en medio de Sabouraud. El tratamiento efectivo es el local.

BIBLIOGRAFÍA

- Bonifaz A. Micología Médica Básica. 1ra ed. México D.F.: Ed. Fco. Méndez Cervantes, 1990.
- Brooks GF, Butel JS, Orston LN, Jawetz E et al. Medical Microbiology. 19th ed. San Francisco: Lange Medicalbook, 1991.
- Emmons ChW, Binford ChH, Utz JP. Medical Mycology. 2nd ed. Philadelphia: Lea Fibeger Ed., 1971.
- Farreras R. Medicina Interna 13ra ed. Madrid: Ed. Harcourt Brace, 1997.
- Iglesias L. Tratado de dermatología. Madrid: Ed. Medicina 2000, 1994.
- López R, Méndez LJ, Hernández F, Castañón R. Micología médica. 1ra ed. México D.F: Ed. Trillas, 1995.
- McGinnis MR, Tilton RC. Agents of superficial mycoses. *En*: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF et al. Clinical and Pathogenic Microbiology. 2nd ed. St Louis: Mosby Ed., 1994; 583.
- Mims J, Playfair J, Roitt I et al. Microbiología Médica. 2da ed. España: Harcourt Brace Ed., 1999.
- Romero Cabello R. Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. 2da ed. México D.C.: Ed. Médica Panamericana, 1999.



Dermatófitos

Silvia Macola Olano

INTRODUCCIÓN

Los dermatófitos se conocen desde 1843 cuando Gruby nombra al *Microsporum audouinii* como el agente productor de tiña de la piel en niños. Son hongos filamentosos que afectan los tejidos queratinizados, piel, pelo y uñas, y producen una micosis cutánea.

Los agentes causales pertenecen a los géneros *Trichophyton* (afecta piel, pelo y uñas), *Microsporum* (afecta pelo y piel, y rara vez uñas) y *Epidermophyton* (afecta piel y uñas). Estos hongos producen enzimas como la queratinasa y otras enzimas proteolíticas que hidrolizan la queratina, constituyente importante de los tejidos que ellos afectan, denominándose *dermatofitosis* a las enfermedades causadas por los mismos y a las lesiones, por su aspecto, se les nombró *tiñas* porque se pensó que eran producidas por vermes o piojos.

Estos hongos en su mayoría se clasifican dentro de los Deuteromycetes u hongos imperfectos, pues sólo se reproducen asexualmente, aunque ya en algunos se ha encontrado su estado perfecto y se han clasificado en los géneros: *Arthroderma* (*Trichophyton*) y *Nannizzia* (*Microsporum*).

Los dermatófitos son hongos que se distribuyen mundialmente. Existen especies que primariamente afectan al humano y se denominan *antropofílicas*; otras se llaman *zoofílicas*, pues infectan a los animales y accidentalmente al hombre; y las *geofílicas* su hábitat es el suelo, aunque igual que las anteriores pueden producir enfermedad en el hombre.

ESPECIES ANTROPOFÍLICAS

T. rubrum
T. tonsurans
T. violaceum
T. mentagrophytes var. *interdigitale*
T. schoenleinii
T. soudanense
T. gourvilii
T. concentricum
M. audouinii

M. ferrugineum
E. floccosum

ESPECIES ZOOFÍLICAS

T. mentagrophytes var. *mentagrophytes* (granular)
T. verrucosum
T. equinum
M. canis
M. nanum
M. gallinae
M. distortum

ESPECIES GEOFÍLICAS

M. gypseum
M. fulvum
T. ajelloi
T. terrestre

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Describiremos aquí las características macroscópicas y las microscópicas de las colonias en medio de Sabouraud de los dermatófitos más frecuentes en nuestro medio.

T. mentagrophytes. Se observan dos tipos de colonias, la variedad *granular* es pulverulenta, de color crema, reverso carmelita a rojizo. Microscópicamente aparecen abundantes microconidias redondas agrupadas en racimo, hifas en espiral, abundantes macroconidias de tres a cinco septos en forma de tabaco. La variedad *interdigitale* forma colonias planas, blancas, vellosas o algodonosas, reverso amarillento o marrón. Al microscopio se observan microconidias en forma de lágrimas a lo largo de las hifas, difíciles de distinguir del *T. rubrum*; en algunas cepas aparecen macroconidias en forma de maza o tabaco de dos a cuatro septos, unidas a las hifas.

Clave para su identificación. Forma de la colonia y pigmentos, microconidias redondas agrupadas en racimos, hifas en espiral, forma de la macroconidia, la ureasa positiva y la perforación del pelo *in vitro*.

T. rubrum. Colonia blanca vellosa o algodonosa, reverso pigmento rojo intenso. Microscópicamente se aprecian microconidias piriformes (en forma de lágrimas) a los lados de las hifas; las macroconidias son raras o no se encuentran; cuando aparecen, son largas en forma de lápiz situadas en el extremo de las hifas o en grupos.

Clave para su identificación. Pigmentación de la colonia, microconidias en forma de lágrimas, forma de la macroconidia, la ureasa negativa o débilmente positiva, la no perforación del pelo *in vitro*.

T. tonsurans. Colonias aterciopeladas, color crema o amarillenta con centro deprimido o levantado en forma de cráter con surcos radiales, reverso pigmento carmelita rojizo. Al microscopio, microconidias abundantes de tamaño variable en forma de lágrimas o maza que pueden agrandarse y tener aspecto de balón, clamidosporas e hifas en raqueta.

Clave para su identificación. Forma de la colonia, características de las microconidias, requerimiento de tiamina para su crecimiento.

M. canis. La colonia es de crecimiento rápido, plana o vellosa, blanca o amarillenta con bordes radiales, reverso amarillo intenso o naranja. Al microscopio se observan abundantes macroconidias de pared gruesa, con más de seis septos, forma de huso o fusiforme, bordes rugosos con excrescencias; microconidias piriformes o clavadas, menos frecuentes.

Clave para su identificación. Forma de la macroconidia y el pigmento amarillo intenso en el reverso.

M. gypseum. Colonia plana, pulverulenta, color canela, reverso rojizo o sin pigmento. Microscópicamente aparecen macroconidias abundantes, de pared delgada con cuatro a seis septos.

Clave para su identificación. Forma de la macroconidia y de la colonia.

E. floccosum. Colonia verde amarillenta, pulverulenta, que muta con rapidez, y se torna estéril (pleomorfismo). Al microscopio sólo aparecen macroconidias en forma de raqueta de uno a cinco septos que nacen solas o en racimos; en los cultivos viejos se observan clamidosporas.

Clave para su identificación. Forma, pigmentación de la colonia, características de las macroconidias, no aparición de microconidias.

PROPIEDADES ANTIGÉNICAS

Los trabajos realizados para investigar la participación inmunológica del hospedero y de esta forma conocer más sobre su patogenia y la búsqueda de pruebas serológicas que ayuden en el diagnóstico, no han dejado nada en claro, por lo cual en la actualidad sigue siendo el estudio micológico lo que determina el diagnóstico de certeza.

Se ha demostrado la presencia de anticuerpos, entre ellos aglutininas y precipitinas, pero su participación no es clara; se ha señalado que la IgM e IgE aparecen elevadas en tiñas crónicas y no están presentes en los inicios de la enfermedad, ni en las formas agudas.

Además, se conoce de la existencia de un factor antidermatofítico en sueros de individuos normales, el cual disminuye o desaparece en pacientes con infecciones crónicas o recidivantes. Es una proteína tipo transferrina, insaturada, que se sintetiza en el hígado, se produce sin ningún estímulo antigénico y se ha encontrado presente en recién nacidos y ancianos.

Se supone que la proteína se filtre a través del tejido celular subcutáneo, migre hacia la dermis y proteja de la penetración de los dermatófitos, lo que explica el por qué individuos sanos que están en contacto constante con las esporas no adquieren la enfermedad.

Las pruebas de inmunidad celular (como MIF, transformación blástica y otras) están disminuidas en los procesos crónicos.

La tricofitina es un antígeno extraído de los dermatófitos del género *Trichophyton*, produce una respuesta parecida a la de la tuberculina en la mayoría de los adultos. Es utilizada con otros antígenos para medir la inmunidad celular.

Las dermatofitides son erupciones de carácter alérgico en las cuales no se encuentran hongos. Pueden ser localizadas o diseminadas. Parece que se producen cuando los productos del mismo son transportados por la sangre desde los focos primarios hasta zonas sensibilizadas de la piel.

PATOGENIA Y DATOS CLÍNICOS

La forma infectante de los dermatófitos son las conidias y fragmentos de micelios que se hallan en las escamas o cabellos de los hombres, animales o en el suelo; la localización de esta micosis es cutánea, raramente un dermatófito invade tejidos subcutáneos a través de vasos linfáticos provocando granulomas, linfedema o fistulas drenantes.

Formas clínicas de las dermatofitosis

Piel	<ul style="list-style-type: none"> — Tiña de los pies (<i>T. pedis</i> o pie de atleta) — Tiña del cuerpo (<i>T. corpori</i>) — Tiña inguinal (<i>T. cruris</i>) — Tiña de las manos (<i>T. manuum</i>)
Pelos	<ul style="list-style-type: none"> — Tiña del cuero cabelludo (<i>T. capitis</i>) — Tiña supurativa (<i>Kerión de Celso</i>) — Tiña de la barba (<i>T. barbae</i>)
Uñas	<ul style="list-style-type: none"> — Tiña de las uñas (<i>T. unguium</i>) u onicomicosis
Dermatofitides	

Tiña de los pies. Es la más frecuente de todas las dermatofitosis del adulto; la forma aguda se caracteriza por prurito, vesículas pequeñas que contienen líquido seroso; la piel entre los dedos se macera, descama y finalmente se agrieta. Además de los espacios interdigitales, puede invadir cualquier área del pie. Las grietas constituyen la puerta de entrada de las bacterias, las cuales producen la infección secundaria más frecuente en estas micosis: la linfangitis.

Los procesos crónicos se caracterizan por descamación, hiperqueratosis y formación de grietas; esta forma clínica se observa con más frecuencia en la planta de los pies.

Tiña del cuerpo. Lesiones circulares pruriginosas de bordes erimatosos, descamados, en los que, en ocasiones, aparecen vesículas; la zona central presenta un aspecto normal.

Estas lesiones pueden aparecer en cualquier parte de la piel expuesta, pero se ven con más frecuencia en cara, brazos y espalda.

Tiña inguinal. Es una lesión eritematoescamosa de bordes elevados, bien definidos, pruriginosa y bilateral. Se localiza en la ingle, periné y zonas perianales; puede evolucionar de forma aguda o crónica.

Tiña de las manos. Tiene las mismas formas clínicas que la de los pies, pero es más frecuente la variedad hiperqueratósica; hay resequedad; la región palmar se observa lustrosa, amarillenta y en la región dorsal pueden aparecer vesículas que se rompen y evolucionan a la formación de placas eritematoescamosas.

Tiña del cuero cabelludo. La *Tiña capitis* se presenta, generalmente, en niños antes de la pubertad. Los cambios de pH, la formación de productos sebáceos y de ácidos grasos de cadena larga como el undecilénico con acción antimicótica, que se producen como resultado de la acción hormonal en la pubertad, no permiten el crecimiento de los hongos productores de las tiñas del cuero cabelludo.

Estos hongos pueden afectar al pelo de tres formas: ectotrix, fuera del pelo; endotrix, dentro del pelo; o combinada, endoectotrix.

La *ectotrix* se caracteriza por zonas alopécicas, únicas o múltiples, redondeadas; el pelo se parte a corta distancia del cuero cabelludo, hay descamación y prurito. Al microscopio se observan esporas en la superficie del pelo que pueden agruparse formando cadenas; por lo general son producidas por hongos del género *Microsporum* (tiña microspórica).

La *endotrix* se caracteriza por lesiones pseudoalopécicas con puntos negros en el cuero cabelludo, causadas por la ruptura del cabello a ras de la piel; son producidas, generalmente, por hongos del género *Trichophyton* (tiña tricofítica).

En esta forma clínica las esporas o filamentos se observan en el interior del pelo.

Tiña fávica. Se produce por el *T. schoenleinii*; se localiza, principalmente, en el cuero cabelludo; la lesión aparece como una placa eritematoescamosa, y se desarrollan pústulas, úlceras, costras amarillentas que con los años dan lugar a áreas alopécicas y cicatrizales.

Kerión. En algunos pacientes con tiña del cuero cabelludo se les producen lesiones profundas granulomatosas, que invaden el folículo piloso, acompañadas de áreas eritematosas, descamativas, severamente inflamadas con ulceraciones profundas, costras y lesiones purulentas con aumento de volumen de la zona; debido a esta lesión puede quedar una alopecia permanente que con frecuencia se acompaña del aumento de los ganglios linfáticos regionales.

Tiña de la barba. Es una foliculitis de la barba y otras áreas de la cara y cuello. Se caracteriza por presentar una placa eritematoescamosa pruriginosa que evoluciona en forma parecida a la tiña del cuero cabelludo con zonas pseudoalopécicas; posteriormente evolucionan a lesiones inflamatorias, papulares, ulcerosas, abscesos con dolor y adenopatías regionales.

Tiña de las uñas. La lesión surge, por lo general, en el borde distal y a partir de ahí el proceso avanza lentamente; se vuelven opacas, sin brillo; aparecen estrías; aumentan de grosor; se tornan quebradizas, amarillentas e irregulares, hallándose debajo de la uña un detritus pulverulento. A veces aparecen lesiones blanquecinas en las uñas (leuconiquia). Las uñas de los pies son más afectadas que las de las manos.

Dermatofitides. Son lesiones alérgicas a distancia, estériles, asociadas comúnmente con la tiña de los pies. Se presentan, casi siempre, en las palmas y dedos de las manos, aunque pueden aparecer en otro sitio del cuerpo. Son pequeñas vesículas muy pruriginosas.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Productos patológicos. Raspado de las lesiones de la piel, pelo o uñas con bisturí estéril. Los pelos pueden extraerse con pinza. En caso de vesículas, cortar el techo, limpiar la lesión previamente con alcohol al 70 %.

Lámpara de Wood. Se coloca la lámpara en la lesión y en los pacientes infectados con *M. canis* o *M. audouinii* se observa una fluorescencia verde brillante; con *M. gypseum* puede verse verde claro.

Examen directo. Entre el cubre y portaobjeto se coloca la muestra y una gota de las siguientes soluciones: KOH al 10 %, dimetilsulfóxido, lactofenol azul de algodón; dar calor, no hervir. En la piel y uñas podemos observar hifas y artrosporas. En el pelo vemos esporas alrededor de este, formando cadenas pequeñas o grandes, o esporas o filamentos dentro del pelo.

Cultivo. Se cultiva en el medio de Sabouraud cloranfenicol cicloheximida, DTM. (*dermatophytes test medium*) a temperatura ambiente entre 7 a 14 días.

Clasificación. Resiembra en medio de Sabouraud, donde observamos características morfológicas de la colonia y pigmentación.

Examen microscópico de un fragmento de la colonia, lo cual en algunas especies nos permite llegar al diagnóstico.

Producción de ureasa, perforación de pelo, producción de pigmentos y microcultivo en medio de agar arroz para diferenciar *Trichophyton mentagrophytes* de *T. rubrum* en las cepas que ofrezcan dudas.

En las cepas que sospechemos *T. tonsurans*, siembra en medio con tiamina.

Para diferenciar *M. audouinii* de *M. canis* se utiliza el medio de grano de arroz.

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL

La mayor parte de los dermatófitos son de distribución mundial, existiendo algunas pocas especies que tienen una determinada localización.

La infección por dermatófitos se transmite de hombre a hombre, de animales a hombre y del suelo al hombre por contacto directo con esporas o fragmentos de micelio de estos hongos. El reservorio animal es muy importante, pues están incluidos animales domésticos como el perro y el gato. La frecuencia de la infección varía con la edad. Las epidermofitosis son más frecuentes en adultos, mientras la tiña del cuero cabelludo lo es en los niños antes de la pubertad.

El control depende de la limpieza y esterilización de los instrumentos usados en las barberías, en el caso de la *Tiña capitis*; no uso de zapatos, ropas, gorras de personas infectadas. Uso de chanquetas en baños públicos, tratamiento de los enfermos y evitar contacto con materiales infectados. Como el calor, la humedad y el sudor favorecen la aparición y mantenimiento de esta micosis, se recomienda el uso de sandalias y, en general, medidas higiénicas.

TRATAMIENTO

Se utilizan productos de aplicación tópica o sistémica como: Whitfield con azufre, ácido undecilénico, tolnaftato, miconazol, ketoconazol, itraconazol, fluconazol, naftifina, terbinafina, griseofulvina.

RESUMEN

Los dermatófitos son hongos filamentosos que afectan los tejidos queratinizados; los géneros en que se agrupan son: *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton*, los cuales pertenecen a los que se reproducen sólo asexualmente; *Nannizzia* y *Arthroderma*, a los que se le ha encontrado reproducción sexual.

Se transmiten de hombre a hombre, de animal a hombre y del suelo al hombre.

Presentan diferentes formas clínicas de acuerdo con la zona del cuerpo que afecten.

El diagnóstico se realiza estudiando el pelo, escamas de piel y uñas de los pacientes afectados por examen directo y cultivo.

En el cultivo se observan las características de la colonia (aspecto, forma, pigmentación) y la producción de estructuras microscópicas (microconidias, macroconidias, hifas en espiral, etc.), lo cual en algunas especies nos permite su clasificación; si no es posible clasificarlos por esta vía, se realizan pruebas adicionales para el diagnóstico definitivo en género y especie.

Los dermatófitos son, generalmente, hongos cosmopolitas, aunque hay algunas especies que se localizan en zonas específicas; se adquieren por contacto directo; el reservorio es el hombre, los animales o el suelo.

El tratamiento es tópico o sistémico.

BIBLIOGRAFÍA

- Bonifaz A. Micología Médica Básica. 1ra. ed. México D.F.: Ed. Fco. Méndez Cervantes, 1990.
- Brooks GF, Butel JS, Orston LN, Jawetz E et al. Medical Microbiology. 19th ed. San Francisco: Lange Medicalbook, 1991.
- Emmons ChW, Binford ChH, Utz JP. Medical Mycology. 2nd ed. Philadelphia: Lea Fibeger Ed., 1971.
- Farreras R. Medicina Interna 13ra ed. Madrid: Ed. Harcourt Brace, 1997.
- Iglesias L. Tratado de dermatología. Madrid: Ed. Medicina 2000, 1994.
- Larrondo JL, González AR, Hernández LM, Larrondo RP. Técnicas para la exploración de los signos patognomónicos de las enfermedades de la piel. *Rev Cub Med En: Integ.*, 1994;10(4):388-92.
- López R, Méndez LJ, Hernández F, Castañón R. Micología médica. 1ra ed. México D.F.: Ed. Trillas, 1995.
- Macola S, Font E. Métodos para la Identificación de Dermatófitos más Comunes en Nuestro Medio. Uso del DTM. *Rev Cub Med Trop*, 1975, sep.-dic.; 27:229-34.
- McGinnis MR, Tilton RC. Dermatophytes. *En: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF et al. Clinical and Pathogenic Microbiology*. 2nd ed. St Louis: Mosby Ed. 1994:587.
- Mims J, Playfair J, Roitt I et al. Microbiología Médica. 2da ed. España: Harcourt Brace Ed., 1999.
- Rabell G, Taplin D. Dermatophytes their recognition and identification. 2nd ed. Florida: University of Miami Press, 1970.
- Rodes J, Guardia J. Medicina Interna. Tomo 1. Barcelona: Ed. Masson, 1997.
- Romero Cabello R. Microbiología y parasitología humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. 2da ed. México D.C.: Ed. Médica Panamericana, 1999.



Capítulo
45

Hongos causantes de micetomas

Sonia Moya Duque

INTRODUCCIÓN

El micetoma (pie de Madura, maduromicosis) es una infección localizada; crónica, deformante, que afecta la piel, el tejido subcutáneo y el hueso; su localización más frecuente es el pie, en ocasiones la mano, espalda o el hombro.

Los agentes etiológicos del micetoma pueden ser los actinomicetos o bacterias filamentosas y los eumicetos u hongos verdaderos (Cuadro 45.1).

La sinonimia de la enfermedad proviene de la región de la India Madura, en la que Gill y otros comunicaron los primeros casos. En 1860, Vandyke Carter notificó una serie de casos y fue el primero en emplear el término micetoma.

Cuadro 45.1. Eumicetos productores de micetoma

Hongos negros (Gránulos negros)	}	<i>Madurella</i>	<i>mycetomatis</i>
			<i>grisea</i>
		<i>Leptosphaeria</i>	<i>senegalensis</i>
			<i>tompkinsii</i>
		<i>Pyrenochaeta</i>	<i>romeroi</i>
Hongos hialinos (Gránulos blancos)	}		<i>mackinnonii</i>
		<i>Curvularia</i>	<i>geniculata</i>
			<i>lunata</i>
		<i>Exophiala</i>	<i>jeanselmei</i>
Hongos hialinos (Gránulos blancos)	}	<i>Pseudoallescheria boydii</i>	
		<i>(Monosporium apiospermum)</i>	
		<i>Acremonium falciforme</i>	
		<i>Cephalosporium Recifei</i>	
		<i>Cephalosporium kiliense</i>	
		<i>Neotestudina rosatii</i>	
		<i>Fusarium sp.</i>	
		<i>Aspergillus nidulans</i>	
Dermatófitos (<i>T. rubrum</i> , <i>M. audouinii</i>)			

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

En esta afección se expulsan gránulos de diferentes colores (blancos, amarillos, rojos y negros) con el pus; cuando se observan al microscopio, se ven hifas entrecruzadas y tabicadas de 3-5 μm , y dependiendo de la especie pueden tener células mayores de pared gruesa en la periferia.

Las especies *Pseudoallescheria boydii* (*Monosporium apiospermum*), son los hongos más frecuentes productores del micetoma. La colonia gris produce conidios ovoides abundantes y ocasionalmente ascosporas dentro de cleistotecias pardas. Otros hongos que producen micetoma son: *Madurella mycetomatis*, *M. grisea* y *Exophiala jeanselmei*. Cada uno tiene su morfología característica de la colonia y su aspecto microscópico.

PATOGENIA Y DATOS CLÍNICOS

Alrededor de 16 especies de hongos causan la enfermedad. Tanto el hombre como los animales la adquieren por implantación traumática mediante espinas, astillas, heno y otros materiales contaminados por algunos de los agentes etiológicos.

La localización más frecuente es en miembros inferiores (pies o piernas) por la posibilidad de sufrir más traumatismos, aunque puede localizarse en caderas, muslos, glúteos, región perianal, espalda, región cervical (en estas dos últimas se ve en individuos que transportan bolsas de caña de azúcar contaminada); otras localizaciones menos frecuentes son en miembros superiores o en cualquier parte de la superficie cutánea (abdomen, cara anterior del tórax, escroto, vulva, cara y cráneo).

El rasgo distintivo es la tumefacción con marcada distorsión de la anatomía normal, trayectos fistulosos secretantes, secreción sanguinolenta o purulenta; leve alteración de la movilidad y dolor relativamente escaso. La enfermedad evoluciona poco a poco; a menudo se le observa varios años después de la implantación inicial. Al principio es localmente invasora y de tipo tumoral, y a medida que se agranda forma trayectos fistulosos hasta la superficie.

El padecimiento puede rebasar la aponeurosis y afectar el músculo, posteriormente el periostio y el hueso, así como otras estructuras (vísceras, pulmones).

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Productos patológicos. Material seropurulento, gránulos, esputo, lavados bronquiales y piezas de biopsias.

La toma de muestra se realiza seleccionando una de las fistulas que esté activa; si la fistula está cerrada, se debe abrir con la ayuda de una aguja de disección. El material se divide en dos para su observación y cultivo. En caso de micetomas sin fistulas la muestra debe ser a partir de biopsia. Si el padecimiento compromete los pulmones, es útil la expectoración y lavados bronquiales.

Examen directo. El material recolectado se coloca entre el porta y cubreobjeto, con una gota de lugol, solución salina o KOH al 10 %. Con la observación de los gránulos es suficiente para establecer el diagnóstico, pues estos pueden ser visibles a simple vista. Con ayuda del microscopio se puede uno orientar en la etiología, basado en el tamaño, color, forma y propiedades especiales de cada gránulo. El examen microscópico directo es un método rápido para detectar si el micetoma es actinomicótico o eumicótico.

Cultivo. Se realiza en medio de Sabouraud agar más cloranfenicol. Si se tratara de una *M. mycetomatis*, el primoaislamiento puede hacerse en BHI agar.

Los eumicetos, por lo general, tienen un tiempo promedio de 15-30 días. Las características micológicas de los agentes etiológicos más frecuentes en los eumicéticos, las exponemos en el Cuadro 45.2.

Cuadro 45.2. Características micológicas de los agentes etiológicos más frecuentes en los micetomas eumicéticos

Microorganismo	Presentación	Cultivo en agar dextrosa de Sabouraud	Aspecto microscópico
Eumicóticos <i>Pseudoallescheria boydii</i>	Gránulos blandos, redondos o lobulados, blancos o amarillos, sin "clavas", pero rodeados en su lugar por células terminales tipo clamidosporas	Colonias vellosas, primero blancas, pero después grises o casi negras	Estadio <i>Scedosporium apiospermum</i> , hifas hialinas con conidios pálidos, marrones, ovales o en forma de clava, en conidióforos simples o ramificados Muchas cepas también producen cleistotecia (cuerpo fructificante sexual del estadio <i>Pseudoallescheria boydii</i>), sobre todo en el borde de la colonia Actividad proteolítica +; actividad amilasa +
<i>Madurella mycetomatis</i>	Gránulos duros, quebradizos, redondos o lobulados, negros, sin "clavas", pero las clamidosporas producidas se localizan en la periferia. Hay partículas de pigmento marrón en hifas y clamidosporas	Colonias planas, membranosas o vellosas, de color tostado a amarillo-marrón u oliváceo. Se produce pigmento marrón difusible	Clamidoconidios. Algunas cepas producen conidios de fíalides pequeñas, esclerotia negra. Actividad proteolítica +; actividad amilasa +
<i>Madurella grisea</i>	Gránulos primero blandos, que se endurecen con el tiempo, redondos o lobulados negros, con hifas hialinas en el centro no pigmentado, hifas marrón oscuro en la periferia. Ausencia de partículas de pigmento marrón en las hifas	Colonia de crecimiento lento, color tostado a gris u oliváceo, aterciopeladas con hifas cilíndricas hialinas y cadenas de células oscuras en gemación. Raras clamidosporas	Clamidoconidios raros. Ausencia de microesclerotia o inclusiones en las hifas. Actividad proteolítica +, actividad amilasa +
<i>Exophiala jeanselmei</i>	Gránulos blandos, irregulares, negros, formados en su mayor parte por clamidosporas marrón oscuro, raras hifas marrones	Colonia negra de crecimiento lento, primero membranosa, más tarde grisácea y aterciopelada	Comienza como cadenas de células en gemación; más tarde se desarrollan hifas. Conidios producidos a partir de anélicos cónicos. Actividad proteolítica +; actividad amilasa +

Pruebas serológicas

Las pruebas serológicas, intradermorreacción, carecen de importancia diagnóstica, porque se requiere un gran número de antígenos, además de los innumerables cruces inmunológicos que presentan.

Otras pruebas útiles para el diagnóstico

Rayos X. Son indispensables para definir el grado de afectación ósea.

Biopsia. Son muy importantes cuando no se encuentran los gránulos al examen directo. La imagen histopatológica es un granuloma crónico inespecífico en la dermis, con hiperqueratosis variable, acantosis irregular e hiperplasia pseudoepiteliomatosa. En la dermis superficial y profunda se presenta un infiltrado granulomatoso, con microabscesos de polimorfonucleares, acompañado de macrófagos, plasmocitos y linfocitos, observándose, por lo general, los gránulos en el centro de los microabscesos.

TRATAMIENTO

El tratamiento del micetoma ha sido, con frecuencia, insatisfactorio, con unas pocas excepciones; depende de una serie de condiciones como son: el grado de avance del proceso y las condiciones del paciente.

Los micetomas eumicéticos son un verdadero problema para la terapia; los mejores resultados se han obtenido con la anfotericina B; también se ha utilizado la griseofulvina, ketoconazol e itraconazol y, en ocasiones, es necesario el tratamiento quirúrgico (amputación) dependiendo de la localización del mismo.

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL

Los micetomas son más frecuentes en países con clima tropical y subtropical.

Los hongos productores de micetomas han sido aislados de la naturaleza, tierra,

detritus vegetal, madera y diversas plantas con espinas. No se ha reportado transmisión de hombre a hombre.

La vía de entrada es cutánea por traumatismos, penetrando los agentes etiológicos a través de una solución de continuidad de la piel.

Los micetomas abundan más en el sexo masculino que en el femenino. Es un padecimiento propio de campesinos, obreros, mecánicos, amas de casa y personas que trabajan en condiciones rudimentarias, sin protección de zapatos cerrados.

RESUMEN

El micetoma es una infección localizada crónica, deformante de los tejidos cutáneos, la piel y el hueso; su etiología es micótica o bacteriana, con un importante número de diferentes géneros. Es más frecuente en países tropicales y subtropicales, así como en el sexo masculino.

La vía de entrada es cutánea por traumatismos, penetrando los agentes etiológicos a través de una solución de continuidad de la piel. La lesión se localiza a menudo en miembros inferiores, pero también puede observarse en miembros superiores, tronco, cara y cuero cabelludo; se caracteriza clínicamente por aumento de volumen, deformación de la región, presencia de fistulas y salida de líquido filante y grumoso. El diagnóstico se establece por examen directo, cultivo, biopsia y rayos X.

En el tratamiento se emplea anfotericina B, ketoconazol e itraconazol.

BIBLIOGRAFÍA

- Alfonso Armenteros J. Micología Médica. La Habana: Edición Científica, 1965:185-217; 244-6;256-66.
- Arenas R. Micología Médica Ilustrada. Micosis subcutánea. Micosis sistémica «Presentación especial de Pfizer». México: Nueva Editorial Interamericana, 1993:153-60.
- _____. Dermatología. Atlas Diagnóstico y Tratamiento. 2da ed. México: Mc-Grow-Hill Interamericana, 1996:46-7.
- Binford CH , Connor DH. Pathology of Tropical and Extraordinary Diseases. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 1976:585-6.
- Bonifaz A. Micología Médica Básica. México: Ed. Fco. Méndez Cervantes, 1991:187-200.
- Conant Norman F. Manual de Micología Clínica. La Habana: Publicaciones Científicas, 1948:126-45;224-41;271-85.
- De Rosso JQ, Gupta AK. Oral itraconazole therapy for superficial, subcutaneous, and systemic infections. A panoramic View. Postgrad Med., 1999 Jul.; spec No: 46-52.
- Domonkos AN. Tratado de Dermatología. La Habana: Ed. Científico-Técnica, 1984:400-02.
- Emmons ChW, Binford ChH, Utz JP. Medical Mycology. 3ra ed. Philadelphia. Lea & Fibeger, 1997: 254-304; 386-423; 437-70.
- Fernández Hernández-Baquero G. Dermatología. La Habana: Ed. Científico-Técnica, 1986:348 -53.
- Ginter G, Petutsching B, Pierer G, Soyer HP *et al* . Case report. Atypical cutaneous pseudallescheriosis refractory to antifungal agents. Mycoses 1999;42(7-8):507-11.
- Jean Shadony H, Utz PJ. Micosis profundas. *En*: Fitzpatrick BT, Eisen AI, Wolff K. Dermatología en medicina general. 4ta ed. Argentina: Ed: Médica Panamericana, 1997:25-66.
- Jawetz E, Melnik JL, Adelberg EA. Micología Médica. Manual de Microbiología Médica. 12ma ed. México: Ed. El Manual Moderno, 1988:278-94.
- Lever WF, Schawburg Lever G. Histopatología de la piel. 7ma ed. Argentina: Ed. Intermédica, 1991:358-9.
- Lennette EH, Bolows A, Hausler W. Manual de Microbiología Clínica. 3ra ed. La Habana: Ed. Científico-Técnica, 1982:723.
- Méndez Tovar LJ, Serrano Jaén, Almeida Arvizu VM. Combined cefotaxime and amikacin for immunomodulation in the treatment of actinomycetoma resistant to conventional treatment. Gac Med Mex, 1999, Sept.-Oct.;135(5):517-21.
- Orkin M, Maiboch H, Dahr M. Dermatología. México: Ed. el Manual Moderno, 1994:210 -6.
- Sáenz N, Moya S, Daniel Simón R *et al* . Micetoma por *Monosporium apiospermum*. Aislamiento y caracterización. Rev Cubana Higiene Epidemiología, 1986, jul.-sep;24(3):339-43.
- Yang SP. Success full treatment of subcutaneous mycoses with fluconazole: A report of two cases. Department of medicine, Veterans General. Hospital Toipe, Taiwan, R.O.C. Chung Hua-J-Hsueh-Tsa-Chih-Taipei, 1995;56(6):432-5.
- Young BA, Fee MJ, Granoff DP, Kobayashi W. Mycetoma. J Am Pediatr Med Assoc, 2000, feb;90(2): 81-4.



Sporothrix schenckii

Sonia Moya Duque

INTRODUCCIÓN

Es un hongo dimórfico, que vive en las plantas o en la madera, y se introduce en forma traumática en el interior de la piel provocando la esporotricosis, que es una micosis subcutánea o profunda de mayor frecuencia en países de América Latina, aunque tiene una distribución universal.

Es de curso subagudo o crónico. La forma clínica más común es la cutáneo-linfática, pero también se describen formas sistémicas que suelen relacionarse con procesos debilitantes de los pacientes.

La esporotricosis fue descrita en 1898 por el médico norteamericano Schenck, el cual reseñó una clásica esporotricosis linfagítica, aunque los mayores aportes a la clínica y micología de la enfermedad se deben a los franceses De Beurmann y Gougerot.

Las formas sistémicas de la esporotricosis han aumentado su frecuencia y en algunos casos se comportan como micosis oportunistas.

Ajello y Kaplan en 1969 reportaron una nueva variedad a la que denominaron *Sporothrix schenckii* var. *luriei*, una cepa similar, teniendo como única diferencia los conidios de mayor tamaño y por la formación de cuerpos esclerosados compuestos por micelios pseudoparenquimatosos pigmentados.

La forma perfecta del *Sporothrix schenckii* no ha sido establecida todavía, especulándose que esta corresponde a un ascomiceto, *Ceratocystis stenoceras*, por lo que únicamente se limita a nombrarlo por problemas taxonómicos, como complejo *Sporothrix ceratocystis*.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Los organismos rara vez se observan en el pus y en los tejidos humanos; pueden aparecer como células gemantes redondas, pequeñas y grampositivas.

El cultivo en agar glucosado de Sabouraud a 25-27 °C muestra unas colonias lisas y húmedas que con el tiempo se oscurecen y aparecen pliegues, siendo esta la fase micelial del hongo.

La pigmentación es variable y se pierde con las resiembras, aunque existen diversos tonos y matices.

A 37 °C en medios ricos en glucosa, las colonias se desarrollan en 4 a 5 días, presentando color blanco o amarillento y consistencia membranosa (fase levaduriforme).

Microscópicamente se observan hifas muy delgadas septadas, ramificadas, hialinas, de 1 a 2 μm de ancho, con la típica producción de conidios piriformes u ovoides que nacen en el extremo de cortos conidióforos los cuales salen en ángulo recto del micelio aéreo. Al envejecer los cultivos, los conidios nacen directamente de los filamentos a través de un corto pedículo, constituyendo unos manguitos alrededor del micelio muy típico. Existen dos formas de conidiogénesis: la acrógena y la pelurógena. La primera de ellas es la que da la formación agrupada radialmente en el extremo del conidióforo, conocida como margaritas; y en la otra nacen directamente de las hifas (simpaduloporas y raduloporas, respectivamente).

Cuando los conidios se desprenden, se hacen más gruesos, de forma triangular, y son las agrupaciones de estos a las que le atribuyen la formación del pigmento de la colonia.

La fase levaduriforme se obtiene a 37 °C en medios ricos en nutrientes, tales como la gelosa sangre, y en BHI agar puede estimularse su crecimiento agregándose 5 % de CO_2 . El desarrollo se obtiene de 3 a 5 días, y aparecen colonias cremosas, blanco-amarillentas, ligeramente acuminadas.

Al microscopio se observan células levaduriformes, ovoides o alargadas que miden 2 a 4 \times 3 a 6 μm ; esta morfología es totalmente diferente de las levaduras que rara vez se observan en los tejidos. En ocasiones presentan fragmentos de micelio, como residuo del mismo dimorfismo.

PATOGENIA Y DATOS CLÍNICOS

La esporotricosis cutánea primaria se inicia a través de traumatismos con material contaminado; la primera lesión se presenta en el sitio de entrada del hongo, produciéndose el chancro esporotricósico; aproximadamente 10 días después se forma, por la interacción con la respuesta inmune, el denominado *complejo cutáneo linfático*. A partir de esto, la enfermedad puede seguir dos cursos: involución de las lesiones y curación espontánea en un porcentaje bajo; o extenderse por contigüidad, observándose placas verrucosas o lesiones gomosas, escalonadas, que afectan los linfáticos regionales y se detienen en el linfático mayor. Cualquier estado de inmunosupresión puede propiciar que la enfermedad se disemine hacia otros órganos.

La esporotricosis pulmonar se inicia de forma similar al de la tuberculosis: primero se presenta el primer contacto, después aparece la esporotricosis primaria pulmonar como un cuadro neumónico, siendo asintomático aproximadamente en el 98 % de los casos, manteniéndose de una manera limitada; a partir de aquí es más fácil la diseminación sistémica.

Debido al polimorfismo de la esporotricosis, existen múltiples clasificaciones clínicas. Adoptaremos la siguiente:

Formas clínicas de la esporotricosis

1. Esporotricosis cutánea:
 - a) Localizada, fija.
 - b) Cutaneolinfática.
 - c) Mucosa.
2. Esporotricosis extracutánea:
 - a) Unifocal.
 - Pulmonar.
 - Osteoarticular.
 - Del Sistema Nervioso Central (SNC).
 - Otros.
 - b) Diseminada, multifocal: en su conjunto son micosis muy poco frecuentes y su origen puede ser por diseminación de una forma cutánea linfática a partir de una infección pulmonar primaria.

Las formas sistémicas de esta infección han sido relacionadas con factores predisponentes como: la malnutrición, el alcoholismo crónico y la inmunodeficiencia.

La topografía más frecuente de la esporotricosis es en miembros superiores e inferiores, iniciándose casi siempre en manos y pies respectivamente. En niños puede ser frecuente la topografía facial.

El diagnóstico se realiza desde el punto de vista clínico, de laboratorio, biopsia y rayos X.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Productos patológicos. Pus de lesiones cutáneas, material obtenido por biopsia, material obtenido por punción, esputo.

Examen directo. No es útil porque puede dar resultados negativos debido a que las levaduras son muy pequeñas y las técnicas convencionales de tinciones con Gram y Giemsa no hacen visible al hongo. Las levaduras se pueden resaltar con técnicas de inmunofluorescencia, pero estas son difíciles de realizar.

En el esputo o tejidos pulmonares, la tinción con hematoxilina eosina, Gomori o PAS permite observar las levaduras en forma de cigarro habano o los cuerpos asteroides típicos.

Cultivo. Es el mejor método para realizar el diagnóstico; se obtiene del exudado de las lesiones escamosas, fragmentos de tejidos y expectoración. La siembra se realiza en los medios habituales de Sabouraud y Mycosel-agar incubándose a 28 °C; las colonias se obtienen en un tiempo promedio de 5 a 8 días. Si se siembra en medios de cultivo ricos en glucosa (gelosa sangre, BHI agar, etc.), por sus características de ser un hongo dimórfico, se obtienen colonias levaduriformes a 37 °C. Esto sucede a menudo cuando la esporotricosis se confunde con cuadros bacterianos.

Para demostrar el agente causal, basta resembrar el hongo en las condiciones anteriores, para obtener la fase filamentosa.

Laboratorios muy especializados disponen de conjugados fluorescentes anti-*S. schenckii* para buscar levaduras en tejidos por inmunofluorescencia directa.

Prueba cutánea (intradermorreacción con esporotricina M)

Por el dimorfismo del *S. schenckii* es posible obtener dos tipos de antígenos provenientes de la fase micelial y levaduriforme, básicamente la composición química de ambos es la misma, está formada por un glicopéptido (una parte polisacáridica y otra estructura peptídica).

Se ha propuesto que la fracción polisacáridica sea la responsable de la antigenicidad, pudiendo variar en dependencia de la fase del hongo, lo cual le daría algunas diferencias inmunológicas. En trabajos realizados sobre estos dos antígenos, se concluye que el resultado obtenido de la fase micelial es superior que el de la levaduriforme, sobre todo para su uso diagnóstico como intradermorreacción.

Se inyecta intradérmicamente en el antebrazo o espalda 1 mL del antígeno a una dilución 1:2 000. La lectura se realiza entre 24 y 48 h; se forma una zona indurada, eritematosa y dolorosa, considerándose positiva si esta zona es mayor que 5 mm de diámetro. Esta prueba es bastante específica, sin embargo hay raros casos negativos, en pacientes anérgicos o inmunodeprimidos, y falsos positivos en individuos que hayan tenido la enfermedad, ya que la respuesta se puede mantener positiva casi de por vida (memoria inmunológica).

Pruebas serológicas

Las pruebas de inmunoprecipitación son el método inmunológico de mayor utilidad por su especificidad en casi todas las formas sistémicas; siendo menos sensibles en las formas cutáneas. Otros métodos incluyen la aglutinación de látex sensibilizado con antígeno soluble de *S. schenckii*, que puede dar titulaciones muy altas (1/40 o mayores); la fijación del

complemento y la aglutinación en tubo de levadura, que junto con la inmunofluorescencia indirecta parecen ser menos específicas al originar reacciones cruzadas con otras micosis.

Biopsia. La histopatología no es característica, está formada por una combinación de imagen granulomatosa y reacción piógena constituida por tres zonas: la central con microabscesos de polimorfonucleares, histiocitos y linfocitos, donde se pueden observar los cuerpos asteroides; la segunda rodea a la zona central, presentando una imagen tuberculoide formada por células epitelioides, de cuerpo extraño y células gigantes de tipo Langhans; la tercera zona o sifiloide formada por linfocitos, plasmocitos y fibroblasto.

Rayos X. Útiles solamente para los casos pulmonares y osteoarticulares.

TRATAMIENTO

La esporotricosis diseminada tiene un pronóstico grave, ya que muchas veces la enfermedad subyacente es inmunodepresora.

Las formas pulmonares suelen ser progresivas y de no tratarse conducen a la muerte del enfermo.

El tratamiento de la forma cutánea linfática es el yoduro de potasio oral.

En la pulmonar, el tratamiento de elección es la anfotericina B, aunque se ha utilizado yoduro de potasio.

El itraconazol, antifúngico triazólico oral, ha demostrado su efectividad en casos de esporotricosis cutánea.

Se ha preconizado el uso de la sulfametoxazol-trimetoprim asociados al yoduro de potasio con buenos resultados.

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL

El *Sporothrix schenckii* se aísla con frecuencia del suelo, desarrollándose saprofiticamente sobre restos vegetales y otras materias orgánicas.

Este hongo se desarrolla preferentemente en zonas tropicales y templadas húmedas, comprobándose que no crece por debajo de 13 °C.

La distribución geográfica abarca países del sur y centro de América; en Japón parece presentar una elevada prevalencia. No es frecuente en EE. UU., Francia, aunque en España se han aislado algunos casos.

La prevalencia e incidencia de esta enfermedad son poco conocidas y se refieren casi exclusivamente a las formas cutáneo-linfáticas, que serían entre el 0,1 y 0,5 % en las áreas endémicas.

La población más expuesta son los trabajadores agrícolas, horticultores y floricultores, alfareros y personas que trabajan con paja.

La esporotricosis es más frecuente en adultos jóvenes del sexo masculino.

El mecanismo de transmisión más común es la penetración transcutánea o transmucosa al producirse un traumatismo de la piel. Parece ser que por la gran inmunidad natural a esta infección se requiere grandes dosis de inóculo. También existe la autoinoculación por rascado. En la esporotricosis pulmonar primaria se acepta, y se ha demostrado experimentalmente en el ratón, la infección por inhalación de los conidios.

La prevención de esta enfermedad radica en la protección contra traumatismo en los profesionales con más riesgo, ya que el organismo causal debe ser introducido de forma positiva por vía subcutánea para producir la enfermedad.

RESUMEN

La esporotricosis es una micosis subcutánea o profunda producida por el *Sporothrix schenckii*, que es un hongo dimórfico el cual tiene una fase micelial y otra levaduriforme.

La fase micelial se cultiva en agar-glucosado de Sabouraud a 25-27 °C y la fase levaduriforme, a 37 °C en medios ricos en glucosa. Es un padecimiento cosmopolita que se adquiere a través de traumatismos con material contaminado; la primera lesión se presenta en el sitio de entrada del hongo, produciéndose el chancro esporotricósico. Las formas clínicas

pueden ser: esporotricosis cutánea (localizada, fija, cutaneolinfática, mucosa) y esporotricosis extracutánea, que a su vez se clasifica en: unifocal (pulmonar, osteoarticular, del SNC, otros) y diseminada multifocal.

El diagnóstico se establece por el examen micológico (directo y cultivo), por la biopsia, la intradermorreacción con esporotricina y las pruebas inmunoserológicas.

El tratamiento se realiza con yoduro de potasio solo o asociado a la sulfametoxazol-trimetoprim. También se ha utilizado el itraconazol. La anfotericina B es el tratamiento de elección en la forma pulmonar.

BIBLIOGRAFÍA

- Alfonso Armenteros J. Micología Médica. La Habana: Edición Científica, 1965:185-217;244-6;256-66.
- Arenas R. Micología Médica Ilustrada. Micosis subcutánea. Micosis sistémica "Presentación especial de Pfizer". México: Nueva Editorial Interamericana, 1993:153-60.
- _____. Dermatología. Atlas Diagnóstico y Tratamiento 2da ed. México: McGraw-Hill Interamericana, 1996:346-7.
- Binford ChH, Connor DH. Pathology of Tropical and Extraordinary Diseases. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 1976:585-6.
- Bonifaz A. Micología Médica Básica. México: Ed. Fco. Méndez Cervantes, 1991:187-200.
- Conant Norman F. Manual de Micología Clínica. La Habana: Publicaciones Científicas, 1948:126-45;224-41;271-85.
- De Rosso JQ, Gupta AK. Oral itraconazole therapy for superficial, subcutaneous, and systemic infections. A panoramic View. Postgrad Med, 1999 Jul.; spec. No.: 46-52.
- Domonkos AN. Tratado de Dermatología. La Habana: Ed. Científico-Técnica, 1984:400-02.
- Emmons ChW, Binford ChH, Utz JP. Medical Mycology. 3rd ed. Philadelphia. Lea & Fibeger, 1997:254-304;386-423;437-70.
- Falabella R, Escobar CE, Giraldo N. Dermatología. 4ta. ed. Colombia: Carvajal SA, 1990:386-7.
- Fernández Hernández-Baquero G. Dermatología. La Habana: Ed. Científico-Técnica, 1986:348-53.
- Flynn TR, Kelse y SM, Hosel DL, Guest JF. Cost effectiveness of amphotericin B monotherapy. Treatment of presumed deepseated fungal infection in neutropenic patients in the UK. Pharmacoeconomics, 1999 nov.;16(5 pt. 2):543-50.
- Jawetz E, Melnik JL, Adelberg EA. Micología Médica. Manual de Microbiología Médica. 12 ed México. Ed. El Manual Moderno, 1988:278-94.
- Jean Shadony H, Utz PJ. Micosis profundas. En: Fitzpatrick BT, Eisen AI, Wolff K. Dermatología en medicina general. 4ta ed. Argentina: Ed. Médica Panamericana, 1997:25-66.
- Orkin M, Maiboch H, Dahr M. Dermatología. México: Ed. El Manual Moderno, 1994:210-16.
- Torres Rodríguez M. Micosis Sistémicas. Monografías Clínicas en Enfermedades Infecciosas. Barcelona: Ediciones Doyma, 1991:35-9;59-68;75-80.
- Yang SP. Success full treatment of subcutaneous mycoses with fluconazole: A report of two cases. Departament of medicine, Veterans General. Hospital Toipe, Taiwan, ROC. Chung Hua-J-Hsueh-Tsa-Chih-Taipei, 1995;56(6):432-5.



Hongos causantes de cromomicosis

Sonia Moya Duque

INTRODUCCIÓN

La cromomicosis (cromoblastomicosis, dermatitis verrugosa) es una infección cutánea y subcutánea crónica causada por diferentes géneros y especies de hongos dematiáceos (de pigmentación oscura) como *Phialophora verrucosa*, *Cladosporium carrionii*, *Fonsecaea pedrosoi* (el más frecuente), *Fonsecaea compactum*, así como *Wangiella dermatitidis*, *Rhinochrysiella aquaspersa*, *Cladophialophora ajelloi* y recientemente se han reportado casos por *Exophiala spinifera*. Esta enfermedad clínicamente se caracteriza por lesiones nódulo-verrucosas localizadas, sobre todo, en miembros inferiores.

El primer caso fue descrito en Brasil por Pedroso en 1911, (el cual no fue publicado); luego Medlar y Lane comunicaron un caso de dermatitis verrucosa en el pie de un estibador de Boston en 1915. El hongo aislado fue tipificado por el botánico Thaxter como *Phialophora verrucosa*. A partir de estos descubrimientos se ha observado que otros microorganismos, estrechamente relacionados, provocan la misma enfermedad.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

En los exudados y en los tejidos afectados pueden encontrarse cuerpos redondos de color café oscuro de pared gruesa, de 5 a 15 μ m de diámetro, que están divididos por tabiques, llamados *células fumagoides* o *células de Medlar*.

Al examen microscópico de las colonias se observan diferentes hifas pigmentadas gruesas y tabicadas, presentándose en algunas cepas cuerpos nodulares. Tienen tres tipos de reproducción asexual, la más común es la disposición en forma de hormodendrum (*Cladosporium*), los conidios se superponen uno encima del otro; la segunda disposición es la de fiálides, donde una sola célula base o conidiógena sostiene esporas elípticas, dando la imagen similar a la de un florero; y la tercera es la acrotheca, donde al final de una hifa o conidióforo se disponen alternativamente los conidios.

El género y la especie está dado por la forma de reproducción que predomine. El *Fonsecaea pedrosoi* tiene los tres tipos de reproducción (cladospórica, fialofórica y acrotheca).

Fonsecaea compactum. Es semejante a *Fonsecaea pedrosoi*, las acrothecas y fiálides son iguales, su diferencia radica en la disposición del hormodendrum, que es mucho más compacto y con mayor número de conidios.

Phialophora verrucosa. Posee una sola forma de reproducción, que es a base de fiálides: la base es de tipo cupuliforme, de aproximadamente 6 a 8 μm , con un collarite en la parte final; de esta estructura nacen conidios redondos o ligeramente alargados; cuando las colonias se hacen viejas, es posible encontrar clamidosporas y cleistotecis.

Cladosporium carrionii. Tiene un solo tipo de reproducción a base de hormodendrum largo, compuesto por cadenas de conidios de 9 a 10 μm que pueden ramificarse.

Wangiella dermatitidis. Presentan numerosas células levaduriformes, con gemas de la mitad de su tamaño; cuando la colonia se hace más vieja, nace un micelio a partir de las células levaduriformes que es septado y oscuro, del que surgen fiálides muy similares a las de *P. verrucosa*, observándose en algunas cepas hormodendrum corto.

PATOGENIA Y DATOS CLÍNICOS

Los agentes de la cromomicosis se encuentran en el suelo y materia vegetal en descomposición, incluida la madera. La enfermedad es provocada por implantación traumática de las esporas e hifas del hongo que penetran en el tejido. La evolución de la enfermedad es crónica, iniciándose la primera lesión en el sitio de la inoculación, como una pápula que crece lentamente hasta formar lesiones nódulo- verrucosas, ocupando la linfa sin transponerla. Sólo esporádicamente se reportan casos que toman huesos o Sistema Nervioso Central.

La lesión inicial aparece como una lesión de tipo papulosa, bien limitada, eritematoescamosa, pruriginosa, que da el aspecto de una tiña del cuerpo. Las lesiones van creciendo poco a poco y quedan nódulos eritematoescamosos que aproximadamente un año después se manifiestan como extensas placas verrucosas o de forma vegetante, cubiertas con abundantes escamas, ulceraciones y costras sanguíneas.

A medida que el padecimiento se hace crónico, va dejando zonas cicatrizantes; es común que se presente linfaestasia, dando un aspecto elefantásico.

El diagnóstico se realiza desde el punto de vista clínico, de laboratorio, biopsia y rayos X.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Productos patológicos. Escamas, material hemopurulento, material de biopsia.

Examen directo. La toma de muestra se hace recolectando las escamas, colocándolas entre porta y cubreobjeto con KOH al 30 %, dejándolas reposar por lo menos 30 minutos. Al microscopio se observa la forma parasitaria de células fumagoides (mal llamadas esclerotes de Medlar); son estructuras que se encuentran solas o agrupadas, de color café, paredes gruesas; presentan dobles membranas y pueden estar divididas por un tabique central, dando el aspecto de grano de café. Es posible observar, además, filamentos gruesos, tabicados y oscuros, que nacen de acúmulos de células fumagoides.

Cultivo. Se realiza sembrando las escamas en los medios de cultivo, como Sabouraud y Mycosel-agar, incubándose a 25 °C. Todas las especies productoras de cromomicosis crecen lentamente (10 a 40 días) y las colonias son macroscópicamente similares, es decir son colonias de crecimiento lento, limitadas, brillosas, aterciopeladas, radiadas con tonalidades verde-oscuras a negras. A simple vista no es posible distinguir y diferenciar las especies, por lo que nos apoyamos en la observación de la micromorfología (microcultivo).

Es importante mencionar que para distinguir las cepas productoras de cromomicosis de los hongos contaminantes comunes, se pueden practicar dos pruebas:

Térmica: sólo las especies de cromomicosis crecen a 37 °C.

Licuefacción de la gelatina: nada más lo hacen los hongos negros contaminantes y nunca los agentes de la cromomicosis.

Pruebas serológicas

De poca importancia, por ser el proceso relativamente superficial y se observa la forma parasitaria con gran facilidad.

Se han detectado precipitinas y anticuerpos fijadores de complemento, perdiendo importancia este hecho porque los antígenos extraídos se cruzan inmunológicamente con una variedad de hongos patógenos.

Biopsia. Histológicamente se presenta un granuloma tuberculoide que contiene las células fumagoides. A nivel de la epidermis, acantosis irregular, hiperqueratosis y paraqueratosis, así como hiperplasia pseudoepiteliomatosa: las estructuras fúngicas son fácilmente visibles a nivel de la capa córnea. A nivel de la dermis superficial y media, se ven granulomas tuberculoides constituidos por linfocitos, células epitelioides y células gigantes de tipo Langhans. Las estructuras fúngicas se observan dentro de las células gigantes.

Rayos X y tomografía. Útiles solamente para los casos de metástasis cerebral y osteólisis.

TRATAMIENTO

Lo más importante es realizar un diagnóstico precoz cuando la enfermedad esté comenzando y las lesiones sean de pequeño tamaño, para poder realizar la extirpación quirúrgica con electrodesecación o criocirugía.

En el tratamiento se recomienda calciferol o vitamina D₂; yoduro de potasio, se aconseja administrarlo asociado al calciferol; 5-fluorocitosina; anfotericina B por vía intravenosa, asimismo se puede inyectar localmente en las lesiones cutáneas.

Otros medicamentos empleados con resultados inconstantes son: isoniacida, estreptomina, tiabendazol y ketoconazol.

Últimamente se está administrando el itraconazol, reportándose casos de curación total, sin embargo, se conoce que este medicamento es más efectivo contra el *Cladosporium carrionii*.

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL

La enfermedad se presenta en climas tropicales y subtropicales.

Las diversas especies etiológicas de la cromomicosis viven en la naturaleza, en el suelo, vegetales y sobre todo se han aislado de la pulpa de la madera. Habitan de preferencia en climas húmedos y cálidos con temperaturas entre 20-25 °C.

La vía de entrada es cutánea a través de una solución de continuidad, presentándose por traumatismos a menudo con astillas de madera; no se transmite de hombre a hombre y los animales son raramente afectados.

Afecta más a hombres que a mujeres, con mayor frecuencia entre la tercera y cuarta décadas de la vida. No hay predisposición racial, siendo más frecuente en campesinos, leñadores y granjeros.

Las medidas profilácticas más adecuadas son el insistir en el uso de calzado cerrado para evitar los traumatismos.

RESUMEN

La cromomicosis es una micosis subcutánea de evolución crónica ocasionada por hongos dematiáceos de los géneros *Fonsecaea*, *Phialophora*, *Cladosporium* y *Rhinoctadiella*. Se adquiere por vía percutánea a partir del suelo y vegetales, a través de una solución de continuidad. La lesión inicial es una máculo-papuloeritematosa en el sitio de inoculación que evoluciona a lesiones nodulares, originando con el tiempo placas de tipo verrucosa. El diagnóstico se logra al identificar las células fumagoides tanto al examen directo con KOH al 30 % como al examen histopatológico, así como en el cultivo para su aislamiento e identificación en género y especie. Su tratamiento se realiza con cirugía, criocirugía, anfotericina B, 5-fluorocitosina, tiabendazol e itraconazol.

BIBLIOGRAFÍA

- Alfonso Armenteros J. Micología Médica. La Habana: Edición Científica, 1965:185-217;244-6;256-66.
 Arango M, Joramillo C, Cortés A. Auricular chromoblastomycosis caused by *Rhinoctadiella aquaspersa*.
 Corporación para investigaciones biológicas. Med-Micol 1998 feb.;36(1):43-5.

- Arenas R. Dermatología. Atlas Diagnóstico y Tratamiento. 2da ed. México: McGraw-Hill Interamericana, 1996:346-7.
- _____. Micología Médica Ilustrada. Micosis subcutánea. Micosis sistémica "Presentación especial de Pfizer". México: Nueva Editorial Interamericana, 1993:153-60.
- Binford ChH, Connor DH. Pathology of Tropical and Extraordinary Diseases. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 1976:585-6.
- Bonifaz A. Micología Médica Básica. México: Ed. Fco. Méndez Cervantes, 1991:187-200.
- Christine Lee MW, Hsu S, Rosen T. Spores and Mycelio in cutaneous. Chromomycosis. J Am Acad Dermatol 1998;39(5):850-2.
- Conant Norman F. Manual de Micología Clínica. La Habana: Publicaciones Científicas 1948:126-45;224-41;271-85.
- De Rosso JQ, Gupta AK. Oral itraconazole therapy for superficial, subcutaneous, and sistemic infections. A panoramic View. Postgrad Med., 1999 Jul. spec. No.:46-52.
- Díaz Almeida JG, Taboas González M, Dubé Dubé A. Cromoblastomycosis en Cuba, estudio retrospectivo clínico y epidémico de 72 enfermos. Rev Cub Med Trop 1978;30(2):95-106.
- Domonkos AN. Tratado de Dermatología. La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1984:400-02.
- Elgart GW. Chromoblastomycosis. Department of Dermatology and cutaneous surgery. Univesity of Miami school of medicine Florida USA. Dermatol Clin, 1996;14(1):77-83.
- Emmons ChW, Binford ChH, Utz JP. Medical Micology. 3rd ed. Philadelphia. Lea & Fibeger, 1977:254-304;386-423;437-70.
- Falabella R, Escobar CE. Dermatología. 4ta ed. Colombia: Carvajal SA, 1990: 386-87.
- Fernández Hernández-Baquero G. Dermatología. La Habana: Ed. Científica-Técnica, 1986: 348-53.
- Flynn TR, Kelse y SM, Hosel DL, Guest JF. Cost effectiveness of amphotericin B monotherapy. Treatment of presumed deepseated fungal infection in neutropenic patients in the UK. Pharmacoeconomics, 1999 nov.:16(5 pt 2):543-50.
- Font D'Escoubert E, Macola Olano S, Rodríguez González DP. Cromomicosis generalizada a *Fonsecaea compactum*. Rev Cub Med Trop, 1983;35(3):283-9.
- Fuch SJ, Milbradt R, Pecher SA. Diagnostic features of chromoblastomycosis and Lobomycosis. Eur. I Dermatol 1993;3:201-5.
- Jawetz E, Melnik JL, Adelberg EA. Micología Médica. Manual de Microbiología Médica. 12 da. ed. México: Ed. El Manual Moderno, 1988:278-94.
- Jean Shadony H, Utz PJ. Micosis profundas. En: Fitzpatrick BT, Eisen AI, Wolff K. Dermatología en medicina general. 4ta ed. Argentina: Ed. Médica Panamericana, 1997:25-66.
- Lennette EH, Bolows A, Hausler W. Manual de Microbiología Clínica. 3ra ed. La Habana: Ed. Científico-Técnica, 1982:723.
- Lever WF, Schawburg Lever G. Histopatología de la piel. 7ma ed. Argentina: Ed. Intermédica, 1991:358-9.
- Moya Duque S, Daniel Simón R, Grillo Martínez R. Cromomicosis de localización poco usual. Rev Cub Med Trop 1989;41(1):93-101.
- Orkin M, Maiboch H, Dahr M. Dermatología. México: Ed. El Manual Moderno, 1994:210-6.
- Pavithran K. Chromoblastomycosis *similating* lepromatous leprosy. International J Lepr, 1998;66(1):59-61.
- Trejo A. Chromoblastomycosis. In: Rehm Schmidt F. Clinical Selections in Dermatology and Micology Illinois: Charles C. Thomas Publisher, 1956:145-50.
- Wortman PO, Winston S, North C. Concurrent chromoblastomycosis caused by *Fonsecaea pedrosoi* and actinomycetoma caused by *Nocardia brasiliensis*. J Am Acad Dermatol, 1995;32(2)suppl.:390-2.
- Yang SP. Success full treatment of subcutaneous mycoses with fluconazole: A report of two cases. Departament of medicine, Veterans General. Hospital Toipe, Taiwan, ROC. Chung Hua-J-Hsueh-Tsa-Chih-Taipei 1995;56(6):432-5.



Candida

Silvia Macola Olano

INTRODUCCIÓN

En 1842, Gruby describe el hongo productor del muguet o algodoncillo que afectaba a los niños. En 1853, Robin nombra a este hongo *Oidium albicans*, y en 1923 Berkhout transfiere la especie al género *Candida*. En las dos primeras décadas del siglo xx, Castellani estudia el papel de la *Candida albicans* en infecciones bronquiales y Ashford observa su presencia en el sprue tropical.

A las enfermedades producidas por este hongo se les denominó candidiasis, las cuales se clasifican en: agudas o crónicas, cutáneas o diseminadas, y pueden ser causadas por diferentes especies del género *Candida*.

Las candidas forman parte de la flora normal de la piel, mucosas, tracto gastrointestinal y vagina. Producen enfermedad cuando las defensas del paciente son afectadas por algún factor predisponente, por lo cual se considera un hongo oportunista.

FACTORES PREDISPONENTES

FACTORES INTRÍNSECOS

Fisiológicos. Gravidéz, prematuridad, ancianos.

Patológicos. Neoplasias, lupus eritematoso diseminado, hemopatías, diabetes u otras endocrinopatías, tuberculosis, sarcoidosis, desnutrición, linfomas, SIDA y todas las enfermedades que depriman el sistema inmunológico.

FACTORES EXTRÍNSECOS

Medicamentos. Antibióticos, corticoides, otros inmunodepresores, píldoras anticonceptivas, quimioterapia contra el cáncer.

Intervenciones quirúrgicas. Cirugía cardíaca, trasplantes renales, operaciones prolongadas con manipulación del paciente con sondas, catéteres, aparatos de respiración artificial, etcétera.

Agentes físicos. Traumatismos, quemaduras, radiaciones.

Otros factores extrínsecos son: ambientes hospitalarios contaminados; mantener las manos en agua por mucho tiempo; dispositivos intrauterinos.

Las lesiones ocasionadas por este hongo pueden ser más o menos benignas, como las de piel y mucosas; o fatales, que son las que se diseminan. Estas últimas pueden afectar órganos importantes como corazón, pulmón, meninges, etcétera.

En general, la vulvovaginitis por *Candida* es la infección más común producida por este hongo.

La mayoría de las infecciones por *Candida* provienen de una fuente endógena, pues esta se desarrolla a partir de los sitios donde habita como comensal. A ese nivel puede producirse una respuesta inmune inadecuada, cambios específicos en un sitio anatómico determinado con variación de pH o disminución en el número de bacterias y otros.

La fuente de infección exógena requiere de un inóculo importante, generalmente acarreado por sondas y catéteres, por transmisión sexual o la inoculación con jeringuillas en el caso de los drogadictos.

La *Candida albicans* es la principal especie patógena, aunque se considera que las siguientes especies: *C. stellatoidea*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. pseudotropicalis* y *C. zeylanoides*, han sido encontradas produciendo enfermedad en el humano.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

A la observación microscópica se ven células redondas, ovales o gemantes que se denominan *blastosporas* o *blastoconidias*, las cuales cuando quedan unidas y se alargan forman un filamento denominado *pseudohifa*.

En el cultivo en el medio de Sabouraud podemos ver colonias blancas, blandas, cremosas, con olor a levadura. A la observación de las mismas en el microscopio hallamos blastoconidias en la superficie y en la profundidad, el pseudomicelio compuesto de pseudohifas; en las uniones de estas últimas se ven blastoconidias agrupadas en racimos, y a veces hay clamidosporas en los extremos.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Las especies de *Candida* poseen un antígeno termoestable y uno termolábil. En la *Candida albicans* se ha podido detectar por pruebas serológicas que tiene dos grupos serológicos: el A y el B.

Por ser las especies de candidas flora normal de la piel y mucosas, el contacto con este hongo comienza desde el nacimiento, por lo tanto, las personas normales poseen anticuerpos contra el mismo.

En sueros de pacientes con candidiasis se ha detectado por numerosos métodos la presencia de precipitinas. Su interpretación es controversial y su uso de rutina no es recomendable. No se ha encontrado correlación entre la posesión de anticuerpos circulantes y la inmunidad en el paciente.

Candidina. Prueba intradérmica que se realiza con extracto de las células de la *Candida*. Produce una reacción parecida a la tricofitina y se utiliza para medir la inmunidad celular.

Las pruebas cutáneas y serológicas no son lo suficientemente específicas para relacionar una enfermedad presente y ser usadas como diagnóstico de candidiasis.

PATOGENIA Y DATOS CLÍNICOS

El primer paso en la colonización e invasión de los tejidos por especies del género *Candida*, es la interacción de la glucoproteína de la superficie de la levadura con la célula epitelial del hospedero, produciéndose el tubo germinativo. Esta pseudohifa de la *Candida* penetra directamente en la célula epitelial. Con las enzimas hidrolíticas que posee, produce la infección dentro de la célula del hospedero y de esta forma el hongo prolifera. Cuando el

proceso infeccioso se desarrolla, hay una reacción inflamatoria a predominio de neutrófilos, cuya función es la de quimiotaxis y fagocitosis.

La *Candida* es un hongo levaduriforme oportunista que sólo produce enfermedad cuando los factores predisponentes están presentes. Por lo tanto, la gravedad de la infección por *Candida* depende de la forma clínica y de los factores predisponentes antes señalados, pudiendo ir desde una candidiasis cutánea de buen pronóstico hasta una sistémica habitualmente de evolución fatal.

Formas clínicas de la infección por *Candida*

Candidiasis genital. El cuadro clínico es el de una leucorrea blanca, espumosa, grumosa, de aspecto viscoso, muy pruriginosa, que recubre la pared de la vagina y el endocérvix; la mucosa de la zona se encuentra eritematosa.

Se halla con frecuencia durante el embarazo, por los cambios hormonales, que dan por resultado un aumento de la concentración de glucógeno en la mucosa vaginal, lo cual provoca cambios en el pH de la misma. También se ve en mujeres diabéticas por aumento de glucosa en los tejidos y en pacientes con tratamiento prolongado de antibacterianos como la tetraciclina y los aminoglucósidos que eliminan la flora bacteriana normal de la vagina. La balanopostitis o balanitis es una lesión del pene y surco balanoprepucial con eritema y placas blanquecinas. Se ve en hombres cuya pareja es portadora de una vulvovaginitis por *Candida* y en diabéticos.

Candidiasis oral (algodoncillo, muguet, sapillo). Placas pseudomembranosas, blanquecinas, cremosas, que pueden recubrir la lengua, mucosa oral y en ocasiones afecta la comisura labial, provocando una grieta o fisura eritematosa y húmeda denominada *queilitis*, *perleche* o *boquera*.

Se ve con frecuencia en recién nacidos de madres con infecciones vaginales que se infectan al paso por el canal del parto, en pacientes en estadio terminal de enfermedades caquetizantes, tales como carcinomas, y en ancianos que padecen enfermedades debilitantes.

La esofagitis por lo general proviene de una candidiasis oral. En el esófago se observan lesiones similares a las orales. Hay disfagia, náuseas y vómitos. Los pacientes refieren ardor y dificultad para tragar los alimentos.

Intertrigo. Se produce en los pliegues de flexión de la piel, de dos superficies que rozan, donde se acumula la humedad (sudor) y aumenta la maceración. La localización más frecuente es: los pliegues axilares, submamarios, inguinales, interglúteos, perianales e interdigitales de manos y pies. Los pacientes más afectados son obesos y diabéticos.

La lesión se caracteriza por formar placas eritematoescamosas con bordes eritematosos bien definidos, son húmedas y en ocasiones aparecen pequeñas escamas o costras. Los síntomas son prurito y ardor.

La candidiasis por rozadura de pañal es muy parecida a la lesión por intertrigo.

Onicomycosis por *Candida*. Se caracteriza por una lesión en la uña y el reborde de la misma (paroniquia). La uña aumenta de grosor, se opaca, oscurece y a veces aparecen estrías. En el reborde de la uña hay inflamación, edema, dolor, y puede producirse la expulsión de un pus que, en ocasiones, si no hay una infección secundaria, podemos observar al microscopio células levaduriformes. Esta lesión aparece en personas que mantienen sus manos húmedas por largos períodos.

Granuloma. Las lesiones se presentan en cualquier parte de la piel, dando lesiones verrucosas, vegetantes, que pueden ulcerarse. Es una forma clínica rara. Se ve en niños inmunodeprimidos, en adultos con una diabetes descompensada o con tumores del timo.

Candidiasis mucocutánea crónica. Esta variedad es casi exclusiva de niños con defectos genéticos o en la función del timo, que los llevan a alteraciones de la inmunidad celular. Las lesiones abarcan todo el cuerpo y mucosas, y en la piel son granulomatosas. Es muy difícil de curar y una gran parte de estos pacientes no llegan a la edad adulta, porque se produce invasión de todos los órganos de la economía.

Candidiasis urinaria. Se asocia con pacientes portadores de diabetes, cateterismos y tratados con corticoides. Puede afectar al riñón, dando manifestaciones de pielonefritis; o localizarse en la vejiga y uretra, produciendo polaquiuria, dolor vesical y manifestaciones de uretritis.

Candidiasis sistémicas o profundas. Son menos frecuentes, se asocian a factores predisponentes severos. Tienen mala respuesta al tratamiento, y para que se produzcan debe haber, por lo general, invasión sanguínea.

Entre estas tenemos la candidiasis broncopulmonar, que se manifiesta con tos, expectoración mucoide gelatinosa, si sólo afecta los bronquios. Cuando el pulmón es afectado, la expectoración puede ser hemoptoica, hay disnea, dolor torácico y febrícula nocturna con toma del estado general.

La endocarditis es frecuente en personas que se administran drogas por vía parenteral con jeringuillas no estériles, en pacientes cateterizados por largo tiempo y en pacientes con cirugía cardíaca. El cuadro clínico se parece a la endocarditis bacteriana.

La meningocelalitis es rara, pero puede aparecer en pacientes leucémicos o en diabéticos con tratamiento sistémico con corticoides.

La septicemia ocurre en pacientes con inmunodepresión severa de la inmunidad humoral y celular. Un ejemplo de lo anterior es el SIDA, donde pueden presentarse, prácticamente, todas las formas clínicas descritas de candidiasis, aunque las más frecuentes son: la oral, esofágica, cutánea y genital.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Productos patológicos. Lesiones de piel, exudado de mucosa vaginal y oral, lavados bronquiales, esputos, orina, heces fecales, líquido cefalorraquídeo (LCR), sangre, fragmentos de biopsias o autopsias, fragmentos de catéter, sondas, válvulas cardíacas, etcétera.

Examen directo. Observación de escamas de piel y uñas con KOH al 10 % entre cubre y portaobjeto. La orina y el LCR se centrifugan para observar el sedimento. En el exudado vaginal se disuelve la muestra en solución salina y se observa el sedimento.

Las candidas pueden ser coloreadas por la técnica de Gram, donde aparecen las blastosporas y las pseudohifas grampositivas.

Para darle importancia a este hongo como patógeno hay que valorar de dónde procede la muestra y si aparecen pseudohifas, lo cual apoya más a que esté actuando como patógeno.

Cultivo. Siembra en el medio de Sabouraud cloranfenicol y Sabouraud cloranfenicol cicloheximida. En este último hay especies de candidas que su crecimiento es inhibido por la cicloheximida como: *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* y *C. zeylanoides*.

A las 48 o 72 horas a temperatura ambiente, aparecen las colonias blancas, húmedas, opacas, con olor a levadura y dentro del agar se observan al microscopio blastosporas y pseudomicelios.

El cultivo mixto y con pocas colonias de sitios donde aparecen como flora normal (esputo, orina, heces y vagina) no son usualmente considerados como patógenos sin una información clínica adicional. La presencia de un cultivo puro y gran número de colonias en el mismo, es altamente sugestivo, independientemente de la zona del cuerpo de donde se haya tomado la muestra, aunque siempre es necesario correlacionarlo con la sintomatología clínica.

Pruebas serológicas

Los métodos serológicos no son útiles para el diagnóstico, aunque, según algunos autores, en las formas granulomatosas y sistémicas pudieran tener algún valor.

La inmunodifusión se considera la más eficiente, de fácil montaje y económica. Se han utilizado la aglutinación con látex, ELISA, RIA, fijación de complemento y otras.

Pruebas para la identificación de las especies de Candidas

1. Formación de tubo germinativo en suero fresco, clara de huevo, etcétera.
2. Auxonograma o asimilación de carbohidratos.
3. Zimograma o fermentación de carbohidratos.
4. Microcultivo en agar maíz o arroz (clamidosporas).
5. Producción de ureasa.
6. Producción de velo en medio de Sabouraud líquido. (Cuadro 48.1.).

Cuadro 48.1. Identificación de las especies de *Candida*

	Tubo germinativo	Clamidosporas	Ureasa	Cicloheximida ^{***}	Producción de velo	Auxonograma*						Zimograma**					
						Glucosa	Maltosa	Sacarosa	Galactosa	Lactosa	Rafinosa	Glucosa	Maltosa	Sacarosa	Galactosa	Lactosa	Rafinosa
<i>C. albicans</i>	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+/-	+	-	-
<i>C. stellatoidea</i>	+/-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>C. tropicalis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	V/+	+	+	V	-	-
<i>C. krusei</i>	-	-	+V	-	+++	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>C. pseudotropicalis</i>	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
<i>C. guilliermondii</i>	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+
<i>C. zeylanoides</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	V	-	-	V	-	-	-	-	-

* Utilización de la fuente de carbono.

** Utilización anaeróbica de un carbohidrato con producción de CO₂ y etanol.

*** Cicloheximida: + resistente, - sensible.

V Variable.

Además de las pruebas señaladas anteriormente, existen kits comerciales con los cuales se obtiene el resultado más rápido y utilizan una batería diagnóstica más amplia, para precisar mejor las especies de levaduras. Entre ellos están: API 20 y 22, Yeast Biochemical Card, Yeast Identification Panel, etcétera.

Otras pruebas utilizadas

Biopsia. Se realiza sólo en pacientes con lesiones granulomatosas cutáneas profundas, donde se observa un granuloma tuberculoide en que aparecen blastosporas y pseudomicelios.

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL

La *Candida albicans* es un comensal obligado del hombre y los animales de sangre caliente. Cuando se aísla del ambiente y frutas, se considera una contaminación fecal.

La candidiasis es una enfermedad cosmopolita muy frecuente en todo el mundo. Afecta a todas las edades y sexos. Las temperaturas elevadas favorecen la sudación y aumentan la posibilidad, en personas predispuestas, de adquirir esta micosis. En algunas formas clínicas como la candidiasis interdigital y onicomicosis de las manos, la ocupación adquiere importancia, sobre todo en trabajos en que las manos se mantienen húmedas, como lavanderas, limpiadores de fruta o pescado y otros.

La candidiasis genital puede transmitirse por el contacto sexual, y a través del canal del parto la madre puede transmitirle infecciones al recién nacido.

El tratamiento no controlado con antibióticos de amplio espectro y corticoides puede desencadenar una infección por *Candida*.

Entre las medidas de control tenemos: evitar el exceso de humedad usando guantes y evitar los factores predisponentes.

TRATAMIENTO

Se aplica dependiendo de la forma clínica. Puede ser, por lo tanto, local y sistémico.

Tópicos

Nistatina: tabletas orales para infecciones gastrointestinales, pues no se absorbe; ungüentos, cremas, óvulos, cremas vaginales, gel y aerosol.

Ketoconazol, miconazol: ungüentos, geles, óvulos.

Soluciones: violeta genciana al 2 %, propionato de sodio, ácido bórico del 1 al 4 %, soluciones saturadas de bicarbonato.

Sistémico

En el tratamiento sistémico pueden utilizarse los derivados azólicos como: clotrimazol, isoconazol, bifonazol, sulconazol, ketoconazol, itraconazol, fluconazol, etc. La anfotericina B sola o con 5-fluorocitosina, cuando no respondan a los imidazoles.

Es fundamental corregir los factores predisponentes.

RESUMEN

Las candidas son hongos levaduriformes que forman parte de la flora normal de algunas zonas de nuestro cuerpo.

Producen enfermedad cuando las defensas naturales son afectadas por algún factor predisponente, considerándose, por lo tanto, como un hongo oportunista.

Los cuadros clínicos pueden ir desde una infección cutánea benigna hasta las formas diseminadas, generalmente fatales. La forma clínica más frecuente es la candidiasis vaginal.

La mayoría de las infecciones por candidas provienen de fuente endógena. La principal especie patógena es la *C. albicans*, aunque hay otras especies que se han encontrado produciendo enfermedad en el humano.

El diagnóstico de laboratorio se realiza por el examen directo, el cultivo en medio de Sabouraud y las pruebas fisiológicas y bioquímicas que permiten su clasificación en género y especies. Los métodos serológicos no son útiles en el diagnóstico, aunque algunos autores señalan que pudieran tener valor en las formas granulomatosas y sistémicas.

La *Candida* es un hongo cosmopolita, muy frecuente en todo el mundo, que afecta a todas las edades y sexos.

El tratamiento depende de la forma clínica y puede ser local o sistémico.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahearn DG, Holzchee J. The white yeast and disease agents: Historical perceptive. *In*: Proceedings of the Fourth International Conference on the Mycoses. Brasilia D.F.: Pan AmericaHealth Organization (PAHO), 1977:119.
- Bakerspigel A. Medically important species of yeast isolated in Ontario, Canada. *In*: Proceedings of the Fourth International Conference on the Mycoses. Brasilia D.F.: Pan American Health Organization (PAHO), 1977:124.
- Bonifaz A. Micología Médica Básica. 1ra Ed. México D.F.: Ed. Fco. Méndez Cervantes, 1990.
- Brooks GF, Butel JS, Orston LN, Jawetz E et al. Medical Microbiology. 19th ed. San Francisco: Lange Medicalbook, 1991.
- Emmons ChW, Binford ChH, Utz JP. Medical Mycology. 2nd ed. Philadelphia. Lea Fibeger Ed., 1971.
- Farreras R. Medicina Interna. 13va ed Madrid. Ed. Harcourt Brace, 1997.
- Iglesias L. Tratado de dermatología. Madrid: Ed. Medicina 2000, 1994.
- López R, Méndez LJ, Hernández F, Castañón R. Micología médica. 1ra ed. México D.F.: Ed. Trillas, 1995.
- McGinnis MR, Tilton RC. Yeats. *In*: Howard BJ, Keiser JF, Smith TF et al. Clinical and Pathogenic Microbiology. 2nd ed. St Louis: Mosby Ed., 1994:615.
- Mims J, Playfair J, Roitt I et al. Microbiología Médica. 2da ed. España: Harcourt Brace Ed., 1999.
- Murillo L, Marín C. Frequency of yeats of the genus *Candida* in humans as pathogens and as past of normal flora. *In*: Proceedings of the Fourth International Conference on the Mycoses. Brasilia D.F.: Pan American Health Organization (PAHO), 1977:124.
- Padilha-Goncalves A. Current aspects of mucocutaneous candidiasis. *En*: Proceedings of the Fourth International Conference on the Mycoses. Brasilia D.F.: Pan American Health Organization (PAHO), 1977:130.
- Rodes J, Guardia J. Medicina Interna. Tomo 1. Barcelona: Ed. Masson, 1997.
- Romero Cabello R. Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. 2da ed. México D.C.: Ed. Médica Panamericana, 1999.



Histoplasma capsulatum

Carlos M. Fernández Andreu

INTRODUCCIÓN

Histoplasma capsulatum var. *capsulatum* es un hongo dimórfico, que habita en suelos enriquecidos con excretas de aves y murciélagos, en regiones de todos los continentes. Es el agente etiológico de la histoplasmosis, una de las micosis sistémicas más estudiadas a escala mundial. Por razones de brevedad, se le suele denominar simplemente *H. capsulatum*. Su fase sexual o estado teleomorfo se ha denominado *Ajellomyces capsulatus*. Existe una variedad dentro de la misma especie, conocida como *H. capsulatum* var. *duboisii*, que es responsable de otra entidad clínicamente diferente denominada histoplasmosis africana.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

A temperaturas inferiores a 35 °C, *H. capsulatum* crece formando colonias con un micelio blanco algodonoso con abundantes hifas aéreas; al microscopio se observan macroconidios tuberculados, esféricos, de pared gruesa, que miden de 8 a 14 μ m de diámetro y microconidios lisos o ligeramente rugosos de 2 a 4 μ m de diámetro; no produce pigmentos difusibles en el medio de cultivo. Pueden presentarse, también, colonias de color pardo con un micelio aéreo escaso, aplanado, de color canela a pardo oscuro con hifas tenuemente pigmentadas, estrechas, y gran número de macroconidios tuberculados.

La macromorfología colonial de *H. capsulatum* resulta difícil de diferenciar de la de algunos hongos contaminantes e, incluso, de algunos patógenos, por lo que se hace imprescindible observar la presencia de los macroconidios tuberculados y demostrar su dimorfismo. Hongos saprófitos como *Chrysosporium* y *Sepedonium* también producen macroconidios muy semejantes a los de *H. capsulatum*, aunque a diferencia de este, no crecen a 37 °C.

En estado parasitario y en medios de cultivo enriquecidos, a 37 °C, se observan células levaduriformes esféricas u ovaladas, de 2 a 3 por 3 a 4 μ m, de paredes finas, que se reproducen por gemación polar con una base estrecha. En los medios de cultivo se desarrollan colonias cremosas de color grisáceo a beige. Se ha establecido que el dimorfismo de *H. capsulatum* está determinado, fundamentalmente, por la temperatura y los nutrientes del medio. La conversión de la fase filamentosa a la levaduriforme y viceversa es un proceso reversible y constituye un valioso criterio de identificación de *H. capsulatum*.

La prueba de exoantígenos ha demostrado ser altamente específica para la identificación de varias especies de hongos patógenos, entre ellos los agentes de micosis sistémica: *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis* y *Coccidioides immitis*. Mediante esta prueba se detectan antígenos solubles específicos elaborados por el hongo en los primeros estadios de su crecimiento y, por lo general, se aplica para el reconocimiento de un cultivo desconocido sin la manipulación que conlleva su estudio morfológico y, por consiguiente, evitando el riesgo de una infección accidental en el laboratorio.

Recientemente se ha descrito la utilización de sondas de ADN (Gen-Probe Inc.) para la identificación de cultivos de *H. capsulatum* con una sensibilidad y especificidad del 100 %.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Se ha reconocido la existencia de, al menos, cuatro patrones antigénicos de *H. capsulatum* con diferencias en la composición de la pared celular; sin embargo, no se han podido determinar sus implicaciones clínicas o epidemiológicas. Por otra parte, se ha demostrado la presencia de un polisacárido antigénico de *H. capsulatum* en los líquidos corporales (suero, LCR, orina, lavado bronquioalveolar) de los pacientes con histoplasmosis diseminada, cuya detección se considera de gran valor diagnóstico y pronóstico.

Más recientemente, se han identificado dos inmunógenos protectores de *H. capsulatum*, uno de ellos obtenido a partir de extractos de la membrana y pared celulares y el otro es un complejo de proteínas ribosomales. Ambos preparados antigénicos han demostrado su capacidad de conferir protección en animales de laboratorio, lo que pudiera tener relevancia como posibles candidatos vacunales.

PATOGENIA Y DATOS CLÍNICOS

La infección por *H. capsulatum* es el resultado de la inhalación de microconidios de la fase filamentosa. La cuantía crítica del inóculo no ha podido ser precisada y depende en gran medida del estado inmunitario del hospedero. Entre los 3 y 5 días después de la inhalación, los microconidios germinan y dan lugar al desarrollo de la fase levaduriforme en el parénquima pulmonar. Los microconidios inhalados inducen una respuesta de neutrófilos en 24 horas, los cuales son responsables de la respuesta primaria no inmune en los pulmones.

Los neutrófilos pueden ser fungicidas frente a los microconidios, pero no frente a las levaduras de *H. capsulatum*. Los macrófagos se acumulan rápidamente y fagocitan a dichas levaduras y es ahí donde estas proliferan. En el hospedero inmunodeprimido se produce un acúmulo excesivo de microorganismos intracelulares, lo que puede inducir un bloqueo de los macrófagos y un retardo del desarrollo de la inmunidad específica del hospedero. Los macrófagos parasitados transportan el hongo hacia los ganglios linfáticos, el bazo, el hígado y otros órganos del sistema reticuloendotelial, dando como resultado una diseminación.

En pacientes con alteraciones de la respuesta inmune celular, la infección por *H. capsulatum* no suele ser controlada y hay tendencia a la diseminación progresiva. La infección se extiende a varios órganos incluyendo médula ósea, hígado, bazo y glándulas suprarrenales. Generalmente esta diseminación progresiva de la histoplasmosis se desarrolla en un corto período después de la exposición, no obstante, en ocasiones puede demorar 2 o más años, en dependencia del estado inmunitario del paciente.

Los pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), con una profunda deficiencia de la función de los linfocitos T, pueden desarrollar un síndrome similar al de una septicemia con *shock*, distrés respiratorio y coagulación intravascular diseminada.

La gran mayoría de las infecciones por *H. capsulatum* cursan de forma asintomática (90 a 95 %) y se manifiestan por la respuesta a la prueba intradérmica de histoplasmina y, en algunos casos, por la presencia de focos pulmonares de calcificación en la imagen radiológica. Sin embargo, entre el 5 y el 10 % de los infectados presentan una sintomatología muy variable que depende, en gran medida, del número de conidios inhalados y del estado inmunitario del hospedero.

Formas clínicas de la histoplasmosis

Las manifestaciones clínicas de la histoplasmosis han sido estudiadas y clasificadas por diferentes autores, y la mayoría de ellos coincide en que las más frecuentes son:

Pulmonar aguda. La forma leve es una enfermedad respiratoria, clínicamente indistinguible de un resfriado común o un estado gripal. Los síntomas más frecuentes son inespecíficos: fiebre, malestar, cefalea, mialgia, anorexia, tos no productiva y dolor torácico. El comienzo es súbito; hay agrandamiento hiliar y del mediastino. Se puede presentar eritema nudoso y multiforme. La radiografía de tórax a veces muestra la presencia de un infiltrado local con linfadenopatía que posteriormente puede calcificarse. Los síntomas es posible que desaparezcan espontáneamente antes de las 3 semanas. En algunos casos la enfermedad toma una forma más severa y hace necesaria la terapia antimicótica. Esta es la forma de presentación de la mayoría de los casos asociados con brotes epidémicos en nuestro país.

Progresiva diseminada. Afecta a niños y a personas de edad avanzada, causando una enfermedad casi siempre mortal. Las edades tempranas se consideran un factor predisponente para esta forma clínica de la enfermedad en el hospedero inmunocompetente. En estos casos la histoplasmosis se presenta como una infección pulmonar aguda de rápida diseminación a varios órganos, llegando a causar la muerte en la mayoría de los casos debido a fallo respiratorio, hemorragia digestiva, coagulación intravascular diseminada o sepsis bacteriana.

En los pacientes infectados por el VIH generalmente adopta una forma caracterizada por la afección a varios órganos y sistemas, con una elevada frecuencia de lesiones cutáneas y de la mucosa oral, una baja positividad en los métodos de diagnóstico serológico y una relativamente alta proporción de medulocultivos y hemocultivos positivos. La respuesta al tratamiento con anfotericina B es pobre. Con frecuencia se observa en el frotis de médula ósea y sangre periférica la presencia de una gran cantidad de levaduras. Los síntomas pulmonares son ligeros y pueden variar de normales a infiltrados miliares difusos, infiltrados lobulares o adenopatía hiliar. En Cuba, es la cuarta micosis oportunista, en orden de frecuencia en pacientes con SIDA.

También se ha observado en otros pacientes inmunodeprimidos o con algún trastorno predisponente como son: los tratamientos con esteroides, trasplantes de órganos, linfomas, leucemias, sarcoidosis, lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, pancitopenia, etc. El cuadro se caracteriza por hepatomegalia, esplenomegalia, linfadenopatía generalizada, anorexia, pérdida de peso y fiebre.

Pulmonar crónica. Esta es una forma clínica que se desarrolla en el adulto, varón, entre la tercera y la cuarta décadas de la vida, residente en áreas endémicas. Constituyen factores predisponentes el hábito de fumar y los defectos anatómicos preexistentes. Más del 90 % de los pacientes dan resultados positivos en las pruebas serológicas que detectan anticuerpos específicos. Estos pacientes pueden responder favorablemente al tratamiento con anfotericina B; sin embargo, si la enfermedad pulmonar de base continúa su avance, el tratamiento antimicótico resulta ineficiente. Los síntomas iniciales son: tos productiva, posibles hemoptisis, disnea y eventualmente otros signos de enfermedad respiratoria crónica (pérdida de peso, inanición, cianosis).

Cutánea primaria. Es una enfermedad que se presenta con muy baja frecuencia (0,5 %). No hay compromiso pulmonar y rara vez se disemina a otro órgano. Se produce por la entrada de partículas contaminadas con material infectante a través de heridas o traumatismos en piel, lo cual puede ocurrir en actividades agrícolas o trabajos de laboratorio. Se desarrolla una úlcera indolora, chancriforme, con adenitis regional. Las lesiones pueden involucionar hasta resolver de forma espontánea a los pocos meses, aunque en otros casos pueden progresar crónicamente con compromiso de los linfáticos de drenaje.

Histoplasmosis. Los histoplasmosomas constituyen masas fibrosas que se desarrollan alrededor de un foco curado de infección primaria pulmonar. Su diagnóstico muchas veces es casual, sobre la base de una radiografía de tórax, donde se puede apreciar una lesión cavitaria, calcificada, con un foco central necrótico que al encapsarse forma una masa rígida y fibrosa. Es importante realizar el diagnóstico diferencial con el tuberculoma, el coccidioidoma y las neoplasias. En ocasiones puede ocurrir una diseminación a otros órganos, sobre todo en pacientes inmunocomprometidos. Algunas veces estas lesiones continúan creciendo cerca de sitios vitales y pueden originar complicaciones, aunque la mayor

parte de los histoplasmosis dejan de crecer y se calcifican. En algunos casos se requiere intervención quirúrgica.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Productos patológicos. Los productos patológicos más recomendados son: esputo y otras secreciones respiratorias, sangre, médula ósea, líquido cefalorraquídeo (LCR), orina, exudados de piel y mucosas, biopsias (hígado, bazo, cerebro, ganglios, etc.), en dependencia del cuadro clínico.

Examen directo. El examen microscópico directo de las muestras, sin coloración previa, resulta de muy poco valor diagnóstico debido al pequeño tamaño de las levaduras. Sin embargo, los frotis coloreados con Giemsa o Wright son de gran ayuda en el diagnóstico de la histoplasmosis. También se ha empleado el blanco de calcoflúor. Para cortes histológicos de muestras de biopsias se recomiendan las coloraciones de PAS y metenamina de plata.

Mediante la coloración de Giemsa las levaduras de *H. capsulatum* se observan dentro de los macrófagos, pequeñas (2 a 3 μ m), redondas a ovoides, con el núcleo teñido de violeta oscuro y el citoplasma en azul tenue, casi incoloro. Por efectos de la propia coloración, ocurre una retracción del citoplasma dando la apariencia de una falsa cápsula. En ocasiones pueden observarse levaduras extracelulares debido a la excesiva multiplicación dentro de las células fagocitarias y su consecuente destrucción.

La observación, en cualquier tipo de muestra clínica, de levaduras intracelulares con las características mencionadas es altamente sugestiva de histoplasmosis; sin embargo, debe tenerse en cuenta que algunas células pequeñas de *Cryptococcus neoformans* pobremente encapsuladas, así como también las células de *Penicillium marneffeii* y *Sporothrix schenckii* pueden crecer intracelularmente y pudieran confundirse con *H. capsulatum*. De igual forma, en los exámenes histológicos las formas pequeñas de *Blastomyces dermatitidis*, las endosporas libres de *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Pneumocystis carinii*, *Toxoplasma gondii* y *Leishmania* spp., pudieran también ser confundidas con *H. capsulatum*.

Cultivo. Se recomienda la siembra de muestras seriadas en medio agar Sabouraud y agar Sabouraud con cloranfenicol y cicloheximida, así como su incubación a 28 °C. El material patológico debe sembrarse paralelamente en medios de cultivo enriquecidos como son: agar-sangre con glucosa y cisteína, y agar infusión de cerebro y corazón con cisteína e incubar a 37 °C para lograr la fase levaduriforme. Otro medio de cultivo recomendado para el primoaislamiento de *H. capsulatum* es el agar extracto de levadura-fosfatos, con hidróxido de amonio.

El tiempo de incubación de las muestras debe ser de 2 a 4 semanas, aunque según la mayoría de los autores es recomendable esperar hasta 6 u 8 semanas; otros, en cambio, prefieren incubar hasta las 12 semanas antes de considerar una muestra negativa.

Inoculación en animales. La inoculación en animales de laboratorio (ratones, cobayos y cricetos son los más susceptibles) se realiza tanto para el aislamiento de *H. capsulatum* a partir de diferentes tipos de muestras de origen clínico o ambiental como para la conversión a la fase levaduriforme *in vivo*. Las muestras "contaminadas" (por ejemplo, esputo) son las que generalmente se someten a este proceso por las dificultades que presenta el aislamiento del patógeno mediante la siembra directa en medios de cultivo. Entre 2 y 4 semanas los animales se sacrifican y los hígados y bazos se maceran e inoculan en los medios de cultivo ya mencionados para su posterior identificación.

Pruebas serológicas

Detección de anticuerpos. Las pruebas serológicas han sido de gran valor en el diagnóstico de la histoplasmosis, no sólo por su relativa rapidez en comparación con los métodos de cultivo e identificación, sino también porque, en muchas ocasiones, son la primera y a veces la única evidencia de infección. Las técnicas más útiles han sido la inmunodifusión doble y la fijación del complemento; también se han usado la aglutinación de látex, la inmunofluorescencia, el radioinmunoensayo y el ensayo inmunoenzimático.

Según algunos autores, las pruebas serológicas son positivas en aproximadamente el 85-90 % de los casos de histoplasmosis sistémica, pero esta proporción es mucho menor en infecciones localizadas o asintomáticas, o en individuos inmunodeprimidos. En casos de meningitis crónica por *H. capsulatum* también se han encontrado anticuerpos en LCR.

La prueba de fijación del complemento es más sensible que la inmunodifusión, aunque menos específica. Si se pretende alcanzar una mayor sensibilidad, se recomienda realizar simultáneamente ambas pruebas. Las pruebas de inmunoprecipitación son, sin embargo, más específicas; la aparición de bandas de precipitación H y M le confiere una alta especificidad. La presencia de una banda M indica una infección activa o pasada, o la aplicación reciente de una prueba intradérmica de histoplasmina; mientras que la banda H indica infección activa y casi siempre aparece acompañada de la banda M.

Detección de antígeno. En los últimos años se han desarrollado técnicas sensibles y específicas para la detección de antígeno polisacárido de *H. capsulatum* en muestras de suero, LCR, orina y lavados bronquioalveolares, mediante radioinmunoensayo y ELISA. Desde los primeros estadios de la enfermedad, este antígeno puede ser detectado, de forma rápida, incluso antes de la aparición de los anticuerpos, y los resultados pueden ser expresados cualitativa y cuantitativamente. Sin embargo, estas pruebas no sustituyen a las pruebas convencionales (detección de anticuerpos, examen directo y cultivo), sino que las complementan, ya que mejoran la sensibilidad general del diagnóstico y aumentan su rapidez, particularmente en aquellos pacientes con las formas graves de la enfermedad.

Prueba cutánea

Esta prueba consiste en la inoculación por vía intradérmica de 0,1 mL de histoplasmina (antígeno metabólico obtenido del filtrado de un cultivo de la fase filamentosa de *H. capsulatum* previamente diluido y estandarizado). La lectura de la prueba se realiza a las 48-72 horas. Su positividad está dada por la formación de una zona de induración con un diámetro mayor de 5 mm. Se considera que esta prueba se hace positiva entre los 15 y 40 días siguientes al contacto con el agente causal. Su valor diagnóstico es limitado, pues no discrimina entre infección pasada y reciente, sin embargo, ha sido una herramienta importante en el conocimiento de la epidemiología de la histoplasmosis, ya que ha permitido delimitar las áreas endémicas. En las formas graves de la histoplasmosis, la negativización de la intradermoreacción es índice de mal pronóstico.

TRATAMIENTO

En las formas benignas de la enfermedad, en individuos inmunocompetentes, generalmente no es necesario el tratamiento antimicótico. La sulfamidoterapia fue empleada con resultados aceptables, en las formas incipientes de la enfermedad, en la década de los años 40. La anfotericina B constituye el antimicótico de elección para el tratamiento de la histoplasmosis. De los compuestos azólicos, uno de los más utilizados ha sido el ketoconazol, y en los últimos años, en inmunocompetentes, ha demostrado ser efectivo el tratamiento con itraconazol como primera opción y anfotericina B como alternativa, tanto para las formas pulmonares como diseminadas. En inmunocomprometidos o en aquellos pacientes con afectación del Sistema Nervioso Central se recomienda como única opción la anfotericina B y continuar con dosis de mantenimiento de itraconazol. El fluconazol también ha sido utilizado cuando hay compromiso del SNC en pacientes que no toleran el itraconazol.

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL

Histoplasma capsulatum crece en suelos con alto contenido de nitrógeno y fosfato, asociado por lo general al depósito y acumulación de excretas de aves y de murciélagos. Se conoce que su distribución en el suelo no es homogénea, sino que se presenta en los llamados "microfos".

Aunque esta especie crece en abundancia sólo en condiciones ambientales relativamente restringidas, *H. capsulatum* se ha encontrado en los cinco continentes. Las zonas de

mayor endemicidad se localizan en regiones tropicales y subtropicales con una temperatura media anual de 22 a 29 °C, una humedad relativa de 67 a 87 % y un promedio de precipitación anual de aproximadamente 1 000 mm .

La región de mayor endemicidad en el mundo se localiza en el centro-este de los Estados Unidos, a lo largo de los valles de los ríos Ohio, Mississippi y Misouri, donde el 80-90 % de la población suele ser positiva a la prueba de histoplasmina. Otras zonas endémicas importantes se localizan en Centro y Suramérica, y las Antillas. También se ha descrito la enfermedad en Asia, África, Australia y Oceanía. En Europa los informes de casos autóctonos de histoplasmosis son escasos.

En Cuba esta micosis fue descrita por primera vez en 1951, y desde entonces se ha presentado en la mayoría de los casos en forma de brotes epidémicos asociados a entrada o permanencia en lugares habitados por murciélagos. Los aislamientos de *H. capsulatum* de muestras ambientales han contribuido también al conocimiento de su hábitat natural y la localización de las fuentes de infección de los brotes epidémicos en nuestro país.

Durante la niñez, ambos sexos son igualmente susceptibles, pero en adultos se presenta más en el hombre que en la mujer. Durante mucho tiempo se ha señalado como causa de este hecho la mayor exposición del hombre a posibles fuentes de infección; sin embargo, en los últimos años se ha comprobado el efecto inhibitorio de los estrógenos sobre el crecimiento de *H. capsulatum*.

Según algunos autores, las formas pulmonares evolutivas son 24 veces más frecuentes en los individuos de la raza blanca que en los negros, aunque otros señalan que no existe relación alguna con la raza.

La histoplasmosis animal ha sido descrita en perros, quirópteros, marsupiales, insectívoros, primates, roedores, carnívoros, entre otros.

Los brotes epidémicos de histoplasmosis han estado relacionados con actividades humanas muy diversas como son: limpieza de locales abandonados, gallineros, palomares, tala de árboles, construcciones, exploración de cuevas, recolección de guano, cría de aves, espeleoturismo, arqueología, maniobras militares, minería, etc. Una exposición muy constante a cantidades abundantes de conidios en ambientes cerrados puede resultar letal, mientras que las exposiciones moderadas provocan infecciones de gravedad variable, muchas de las cuales, en individuos inmunocompetentes, se resuelven en forma espontánea. Los casos de transmisión por vía percutánea han sido muy escasos.

RESUMEN

La histoplasmosis es una enfermedad granulomatosa que se distribuye por todo el mundo. Es causada por el hongo dimórfico *Histoplasma capsulatum*, cuyo hábitat natural se corresponde, fundamentalmente, con aquellos lugares donde hay acumulación de excretas de aves y murciélagos. Las regiones de mayor endemicidad se localizan en el continente americano, sobre todo en el centro-este de los EE. UU. La infección se adquiere por inhalación de los conidios infectantes del hongo, los cuales pueden alcanzar los alveolos pulmonares y de ahí diseminarse, principalmente, a los órganos del sistema reticuloendotelial, por lo que la enfermedad puede presentarse localizada en pulmones o de forma diseminada, lo que ocurre, en general, en individuos inmunocomprometidos.

El diagnóstico de laboratorio se realiza a partir de la observación microscópica y cultivo de los productos patológicos. Las pruebas serológicas son de gran utilidad para la detección de anticuerpos y antígenos específicos.

Se presenta con más frecuencia en los hombres que en las mujeres; todas las edades son susceptibles, aunque se desarrolla más a partir de la tercera década de vida. Los brotes epidémicos de histoplasmosis tienen lugar por la exposición a una fuente común, casi siempre relacionada con lugares habitados por murciélagos o aves; no hay transmisión de persona a persona ni de los animales al hombre. Entre las especies animales susceptibles se encuentran los perros, quirópteros, roedores, entre otros. La droga de elección para el tratamiento de la histoplasmosis es la anfotericina B. También han dado buenos resultados el itraconazol y el ketoconazol.

BIBLIOGRAFÍA

- Bonifaz A. Micología Médica Básica. México D.F.: Ed. Fco. Méndez Cervantes, 1991.
- Bradsher RW. Histoplasmosis and blastomycosis. Clin Infect Dis 1996;22(suppl. 2):s102-11.
- Deep GS. Prospects for the development of fungal vaccines. Clin Microbiol Rev 1997;10(4):585-96.
- Fernández Andreu CM, Martínez Machín G. Histoplasmosis en Cuba. Rev Iberoamer Micol 1994;11(2):52-3.
- _____. *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* e histoplasmosis en Cuba. Rev Cub Hig Epidemiol 1996;34(1):34-42.
- Fernández Andreu CM, Corral Varona C, Martínez et al. Histoplasmosis diseminada en pacientes con SIDA en Cuba. Rev Cub Med Trop 1996;48(3):163-9.
- Font D'Escoubet E, Macola Olano S, Chang Puga M. Aislamiento de *Histoplasma capsulatum* del medio en Cuba. Rev Cub Med Trop 1975;27:115-27.
- _____. Macola Olano S. *H. capsulatum*: aislamiento de murciélagos en Cuba. Rev Cub Med Trop, 1976; 28:119-25.
- Kaufman L. Laboratory methods for the diagnosis and confirmation of systemic mycoses. Clin Infect Dis, 1992;14(suppl. 1):s23-9.
- Lacaz CS, Porto E, Heins-Vaccari EM, Melo NT. Guia para identificação. Fungos, actinomicetos, algas de interesse médico. São Paulo: Sarvier, 1998.
- Macola Olano S, Font D'Escoubet E. Valor de la prueba de inmunodifusión doble en el diagnóstico de histoplasmosis. Rev Cub Med Trop 1977;29:81-4.
- Rodríguez Barreras ME, Capó de Paz V, Fernández Andreu CM, Martínez Machín G et al. Histoplasmosis cutánea diseminada como forma de presentación del SIDA. Actas Dermo-Sifilogr 1992;83(6):332-4.
- Torres-Rodríguez JM. Monografías Clínicas en Enfermedades Infecciosas. Barcelona: Ed. Doyma, 1991.
- Wheat LJ. Diagnosis of histoplasmosis. Indianapolis: IUPUI Print Facilities, 1994.



Cryptococcus neoformans

Carlos M. Fernández Andreu

INTRODUCCIÓN

Cryptococcus neoformans es una levadura encapsulada, agente etiológico de la criptococosis, micosis de curso subagudo o crónico que puede presentar diferentes manifestaciones clínicas, aunque más del 75 % de los casos se localizan en el Sistema Nervioso Central. Su estado teleomorfo es conocido como *Filobasidiella neoformans*.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Cryptococcus neoformans crece en la mayoría de los medios de cultivo empleados en el laboratorio de micología. En agar Sabouraud o en agar extracto de malta, las colonias se desarrollan en 36 a 72 horas a 25-30 °C o a 37 °C. Estas colonias son de color blanco amarillento a crema, y se tornan más oscuras al envejecer. Su aspecto es mucoso, poco elevadas, brillantes, de bordes enteros y húmedas.

Desde el punto de vista microscópico, *C. neoformans* se observa como una levadura encapsulada, esférica, que puede medir entre 2 y 15 μ m de diámetro, con una o dos yemas o brotes que permanecen unidos a la célula madre por una base estrecha hasta alcanzar su mismo tamaño; rodeando la célula se puede apreciar una cápsula, de grosor variable, la cual se hace evidente en preparaciones con tinta china o nigrosina al 10 %. En condiciones especiales de cultivo, se ha podido observar la presencia de pseudomicelios.

La formación de la cápsula puede ser estimulada *in vitro* mediante la siembra en agar chocolate a 37°C en atmósfera de CO₂, mientras que, por el contrario, en pasajes sucesivos en medios de cultivo como agar Sabouraud o agar extracto de malta, el tamaño de la cápsula tiende a disminuir. Entre las características fisiológicas de *C. neoformans* se encuentran su incapacidad de fermentar los carbohidratos, la asimilación de inositol y la producción de ureasa y fenoloxidasa; la primera de estas enzimas actúa sobre la urea con la consiguiente alcalinización del medio, mientras que la segunda es capaz de oxidar una variada gama de sustratos difenólicos hasta convertirlos en melanina. Ambas propiedades se han utilizado en las pruebas de identificación de *C. neoformans* en el laboratorio. Otras especies del género también han sido responsables de enfermedades en el hombre: *C. albidus*, *C. laurentii* y *C. terreus*.

Se conocen dos variedades de esta especie: *C. neoformans* var. *neoformans* y *C. neoformans* var. *gattii*, las cuales se diferencian en su comportamiento bioquímico, sus respectivos hábitats naturales y características antigénicas. Teniéndose en cuenta estas diferencias bioquímicas, se han confeccionado medios de cultivo que permiten su identificación.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Las dos variedades de *C. neoformans* agrupan, a su vez, a cuatro serotipos, basándose en las características de los respectivos polisacáridos capsulares: A, B, C y D. Este antígeno capsular, formado fundamentalmente por el glucuronoxilomanano, es un polisacárido soluble en agua y puede hallarse en los líquidos corporales (LCR, suero, orina) de pacientes con criptococosis, por lo que su detección es una herramienta de gran valor diagnóstico. Desde el punto de vista de su estructura química, es un polisacárido de alto peso molecular constituido por un polímero de α -1-3 manano con ramificaciones de xilosa y ácido glucurónico. En cada uno de los serotipos de *C. neoformans* esta estructura varía en cuanto a la relación de manosa, xilosa y ácido glucurónico, así como en el grado de sustitución de los radicales de manosa.

PATOGENIA Y DATOS CLÍNICOS

La virulencia de *C. neoformans* está determinada, principalmente, por tres factores: la capacidad de crecer a 37 °C, la producción de la enzima fenoloxidasa y la presencia de la cápsula. Estas tres propiedades son esenciales pero no suficientes para la virulencia. Los aislamientos carentes de cápsula son menos virulentos que los encapsulados. Por otra parte, en aquellos casos clínicos causados por cepas no capsuladas o con cápsulas muy pequeñas, la respuesta del hospedero ha sido más fuerte y la enfermedad menos severa. El polisacárido capsular es el responsable tanto de la inhibición de la fagocitosis de *C. neoformans* como de la supresión de la inmunidad celular y humoral, y de la depresión del proceso inflamatorio; además, se considera también un potente activador de la vía alternativa del complemento.

Otro factor de virulencia importante de *C. neoformans* es la producción de la enzima fenoloxidasa, la cual es capaz de utilizar como sustratos una gran cantidad de compuestos difenólicos entre los que se encuentran las catecolaminas; como resultado de esta actividad se obtiene la melanina con la consiguiente coloración oscura de las colonias y, en ocasiones, del medio de cultivo. El mecanismo mediante el cual esta enzima contribuye a la virulencia de *C. neoformans* todavía no ha sido completamente explicado, aunque se conoce que la melanina protege a la célula fúngica contra diversos agentes físicos (temperatura, radiaciones) y enzimáticos inducidos por los mecanismos de defensa del hospedero.

El marcado neurotropismo de *C. neoformans* también constituye un factor de virulencia, ya que se considera una forma de evadir las defensas del hospedero, lo cual está relacionado con la melanogénesis, sobre todo si se tiene en cuenta el alto contenido de catecolaminas en los órganos del Sistema Nervioso Central (SNC).

Salvo raras excepciones, la puerta de entrada de *Cryptococcus* son los pulmones. La infección pulmonar primaria puede permanecer localizada o diseminarse a otros órganos en dependencia del estado inmune del hospedero. En individuos con un sistema de defensa íntegro, la infección que sigue a la inhalación se resuelve rápidamente con mínima sintomatología, por lo que la mayoría de estas infecciones pulmonares no se diagnostican. En pacientes con compromiso en los mecanismos de defensa específicos, particularmente factores o patologías que afectan la respuesta inmune mediada por células, la enfermedad se extiende con rapidez y afecta casi todos los órganos, en especial el SNC. Las principales condiciones predisponentes asociadas a la criptococosis son: trasplantes de órganos, tratamientos prolongados con esteroides, leucemias crónicas, enfermedad de Hodgkin, sarcoidosis y SIDA.

Formas clínicas de la criptococosis

Meningitis. Es la forma clínica más común de presentación; se describe clásicamente como de comienzo insidioso, subagudo y en ocasiones crónico. Los síntomas más frecuentes son la fiebre y la cefalea. Esta última, durante meses, puede ser la única manifestación; por lo general es frontal, retroorbitaria o temporal y se inicia en forma insidiosa hasta hacerse continua y progresiva. Otros síntomas pueden ser: fotofobia, trastornos mentales, náuseas, vómitos y malestar general. El LCR suele ser claro, con presión elevada, aumento en el número de células (comúnmente $< 800/\text{mL}$) a predominio de linfocitos y baja concentración de glucosa. En los pacientes con SIDA, el estudio citoquímico del LCR puede ser normal.

Meningoencefalitis. Es una forma poco común de infección fulminante y muerte en breve plazo, que resulta de la diseminación de la infección meníngea al parénquima cerebral. Los síntomas clínicos comprenden obnubilación, trastornos de memoria, confusión, irritabilidad, cambios de personalidad y psicosis. Las manifestaciones oculomotoras incluyen fotofobia, oftalmoplejía y nistagmo. Puede confundirse con el criptococoma si se presentan signos focales tales como hemiparesia o hemiplejía. La aparición del cuadro de meningoencefalitis puede prevenirse en algunos casos con un diagnóstico rápido y un tratamiento oportuno.

Criptococoma. Es la forma menos frecuente de presentación de la criptococosis del SNC. La sintomatología se caracteriza por cefalea, trastornos mentales (confusión, letargia y coma), náuseas, vómitos y trastornos visuales. La localización ocurre, principalmente, en los hemisferios cerebrales, con menos frecuencia en médula espinal y sólo rara vez en el cerebelo. Su tamaño es variable, desde unos pocos milímetros hasta 6 cm y con frecuencia se presenta como lesiones múltiples.

Pulmonar. La infección pulmonar sintomática se manifiesta con tos, expectoración mucosa, malestar general, dolor pleural, pérdida de peso y fiebre. En algunos casos puede confundirse con la tuberculosis. Las imágenes radiológicas son inespecíficas y consisten en infiltrados localizados, no muy extensos en lóbulos inferiores, aunque también puede presentarse un nódulo pulmonar solitario.

Diseminada. Además de la diseminación al SNC, a partir del foco pulmonar, la criptococosis puede diseminarse a otros órganos: hígado, riñón, bazo, ganglios linfáticos, suprarrenales, próstata, entre otros. En pacientes inmunodeprimidos, es común la criptococemia. La diseminación ósea es poco frecuente, aunque fue una de las primeras formas conocidas de criptococosis; las lesiones líticas se localizan, sobre todo, en el cráneo, costillas, pelvis y epífisis de huesos largos y vértebras.

Cutánea. Puede presentarse en el curso de la diseminación o como formas cutáneas primarias. Generalmente se manifiesta en forma de pápulas, nódulos subcutáneos y ulceraciones.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Productos patológicos. La muestra clínica más útil para el diagnóstico de la criptococosis es el LCR. Otras que son de utilidad, en dependencia de las manifestaciones clínicas, son: sangre, suero, esputo, lavado bronquioalveolar, aspirado de lesiones cutáneas, orina y biopsias.

Examen directo. El examen microscópico directo se realiza mezclando una gota de tinta china o nigrosina con sedimento de LCR, orina, lavado bronquioalveolar o con material de biopsia macerado; permite la observación de las levaduras encapsuladas por contraste negativo. La presencia de células gemantes es útil para evitar falsos diagnósticos por confusión con leucocitos u otros elementos formes. Esta técnica tiene una sensibilidad del 50 al 70 %, aunque sobrepasa el 90 % en pacientes con SIDA.

Cultivo. El material clínico obtenido debe ser inoculado en placas de agar-sangre o agar Sabouraud con cloranfenicol o sin este (no debe añadirse cicloheximida, ya que inhibe su crecimiento). La incubación debe realizarse a 30 °C durante 48 a 72 horas como mínimo, aunque no se deben descartar como negativos hasta pasadas, al menos, 3 semanas.

Pruebas serológicas

La detección del polisacárido capsular en el LCR y otros fluidos corporales (suero, orina y lavados bronquioalveolares) mediante la prueba de aglutinación de látex, constituye una herramienta de alta sensibilidad y especificidad que permite el diagnóstico rápido de la criptococosis. También se ha empleado la técnica de ELISA.

La detección de anticuerpos no tiene valor diagnóstico, aunque su presencia suele reconocerse como signo de buen pronóstico. Las técnicas más utilizadas para su detección son la inmunofluorescencia indirecta y la aglutinación en tubo.

TRATAMIENTO

La anfotericina B sola o en asociación con la 5-fluorocitosina se ha utilizado durante mucho tiempo como terapia de elección en el tratamiento de la criptococosis. La dosis puede variar en dependencia de la forma clínica y del estado del paciente.

Los derivados azólicos han ocupado un lugar importante en los esquemas de tratamiento. El ketoconazol no resultó de utilidad en la criptococosis del SNC. Los triazoles, fluconazol e itraconazol, han mostrado buenos resultados, con porcentajes de éxito (50 a 60 %) similares a los reportados para la terapéutica con la anfotericina B.

Los pacientes con meningitis por *Cryptococcus* asociada al SIDA deben ser tratados inicialmente con anfotericina B más 5-fluorocitosina durante 2 semanas y seguir el tratamiento con 400 mg/d de fluconazol por otras 8 semanas.

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL

La criptococosis se considera la más ampliamente distribuida entre todas las micosis profundas. Debido a la ubicuidad de su agente etiológico, una gran parte de la población puede estar expuesta; sin embargo, la enfermedad se presenta con una frecuencia muy baja en individuos inmunocompetentes, lo que ha hecho considerar la existencia de una fuerte resistencia natural a esta enfermedad. La inmensa mayoría de los pacientes presentan algún factor predisponente o enfermedad de base que generalmente se asocia a deficiencias en los mecanismos de inmunidad celular. Entre estos factores, los más importantes son: la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), los tratamientos prolongados con corticosteroides, los trasplantes de órganos, leucemias, linfomas y sarcoidosis.

Entre las especies animales que pueden padecer la enfermedad se encuentran, con relativa frecuencia, los gatos. También se ha descrito en perros, caballos, monos, koalas, etc. Ha sido reportada la mastitis epizoótica bovina y la neumonía en el ganado caprino. En las aves, la enfermedad es muy rara, lo que se ha atribuido a su alta temperatura corporal.

La criptococosis no se transmite de persona a persona, ni de animal al hombre, ni entre animales. Tampoco se han informado brotes epidémicos en humanos por exposición simultánea a una fuente común. Todas las edades son susceptibles, aunque se ha presentado con mayor prevalencia entre los 20 y 50 años; mientras que la incidencia de la enfermedad en los prepúberes es extremadamente rara. Es mucho más frecuente en el hombre que en la mujer, lo que se ha atribuido, al igual que en otras micosis, al efecto inhibitorio de los estrógenos sobre algunas especies fúngicas. No se ha encontrado predilección por determinada raza u ocupación, ya que son los factores predisponentes del hospedero los que determinan el curso de la infección.

El principal hábitat conocido de *C. neoformans* en la naturaleza son las excretas de palomas y el suelo próximo a los palomares (*C. neoformans* var. *neoformans*). Otro nicho ecológico recién identificado, específicamente para *C. neoformans* var. *gattii*, ha sido el relacionado con los eucaliptos. Muchos autores consideran que deben existir otros hábitats aún no conocidos de *C. neoformans*.

Cryptococcus neoformans var. *gattii* sólo ha sido reportada en algunas regiones tropicales y subtropicales, con marcada prevalencia en el sur de California, Australia, México, Brasil, África y sudeste asiático. En pacientes con SIDA, esta variedad se ha reportado de forma muy esporádica. Los casos de criptococosis causados por *C. neoformans* var.

neoformans tienen una distribución más extensa, que abarca tanto zonas de clima tropical como subtropical y templado. En Cuba sólo ha sido encontrada la variedad *neoformans*, tanto en aislamientos clínicos como ambientales.

RESUMEN

La criptococosis es una micosis oportunista, causada por la levadura encapsulada *Cryptococcus neoformans*, la cual tiene distribución mundial y cuyo hábitat natural se asocia a las excretas de aves, frutas y eucaliptos. La infección se adquiere por la inhalación de las partículas infectantes del hongo, que llegan hasta los alveolos. A partir de ahí, generalmente ocurre una rápida diseminación al SNC, dando lugar a meningitis o meningoencefalitis; pueden presentarse lesiones en piel y huesos. El diagnóstico de laboratorio se basa en la observación microscópica de las típicas levaduras encapsuladas en los líquidos corporales (LCR, orina, lavados bronquioalveolares) o biopsias. La detección de antígeno, mediante la prueba de aglutinación de látex o ensayo inmunoenzimático, garantiza un diagnóstico de alta sensibilidad y especificidad. La criptococosis se presenta, principalmente, en individuos con alteraciones de la respuesta inmune, como son: los enfermos de SIDA o sometidos a trasplantes de órganos o tratamientos inmunosupresores, neoplasias, entre otros. No existe predilección por edad, raza, sexo u ocupación, pues son los factores del hospedero los que determinan el curso de la infección. La enfermedad también ha sido descrita en diferentes especies de mamíferos. No se conoce transmisión de estos al hombre ni de hombre a hombre. El tratamiento se basa en el uso, preferentemente combinado, de anfotericina B, 5-fluorocitosina y fluconazol.

BIBLIOGRAFÍA

- Bonifaz A. Micología Médica Básica. México D.F.: Ed. Fco. Méndez Cervantes, 1991.
- Deep GS. Prospects for the development of fungal vaccines. Clin Microbiol Rev 1997;10(4):585-96.
- Fernández Andreu CM, Martínez Machín G, Álvarez Bernal LP et al. *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* isolated in Havana City. Mem Inst Oswaldo Cruz 1990;85(2):120.
- Kaufman L. Laboratory methods for the diagnosis and confirmation of systemic mycoses. Clin Infect Dis 1992;14(suppl. 1):s23-9.
- Lacaz CS, Porto E, Heins-Vaccari EM, Melo NT. Guia para identificação. Fungos, actinomicetos, algas de interesse médico. São Paulo: Sarvier, 1998.
- Torres-Rodríguez JM. Monografías Clínicas en Enfermedades Infecciosas. Barcelona: Ed. Doyma, 1991.

A graphic featuring a light-colored, textured oval shape. Inside the oval, the word "Capítulo" is written in a purple, serif font at the top, and the number "51" is written in a larger, purple, serif font below it. A horizontal purple line extends from the right side of the oval across the page.

Capítulo

51

Coccidioides immitis, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Blastomyces dermatitidis*

Carlos M. Fernández Andreu

COCCIDIOIDES IMMITIS

Coccidioides immitis es un hongo dimórfico, que habita en suelos de regiones áridas y semiáridas del continente americano. Es el agente causal de la coccidioidomicosis, micosis sistémica caracterizada por una gran variedad de manifestaciones clínicas. No se conoce su fase sexual o estado teleomorfo.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Las colonias características, cuando se cultivan en agar Sabouraud, a temperatura ambiente (25 a 30 °C), son de color blanco a blanco grisáceo, algodonosas, secas, sin bordes bien delimitados, que se desarrollan en 2 a 4 días, las cuales pueden ser fácilmente confundidas con otros hongos. Al microscopio se observan abundantes hifas ramificadas, tabicadas, de pared fina, que se fragmentan con facilidad para dar lugar a una gran cantidad de conidios de forma alargada o rectangular llamados *artroconidios* (de 2 a 4 μ m de largo), que se encuentran separados entre sí por una célula "vacía", de pared fina. Muchas veces para la identificación de los cultivos sospechosos de *C. immitis* se hace necesario la demostración del dimorfismo mediante la inoculación de animales de laboratorio.

Cuando el hongo crece en los tejidos de un hospedero susceptible, se desarrollan estructuras esféricas llamadas *esférulas*, de 20 a 80 μ m de diámetro, de pared gruesa, que contienen esporas globosas en su interior, llamadas *endosporas*, de 2 a 5 μ m de diámetro. Cada esférula puede contener hasta cientos de endosporas; cuando la esporulación se completa, la pared de la esférula se rompe y se liberan las endosporas que crecen hasta convertirse en nuevas esférulas. Estas mismas estructuras pueden obtenerse cuando se cultivan en medios de cultivo especiales, de 39 a 40°C y con atmósfera de CO₂ al 20 % a partir de la fase filamentosa.

Para la confirmación de la identidad de los cultivos, por su elevada especificidad, se recomienda la prueba de exoantígenos. Con este mismo fin ha sido diseñada una sonda específica no radioactiva de ADN (Gen-Probe Inc.) que permite su identificación rápida y específica.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

La pared celular de *C. immitis* es compleja y entre sus principales componentes se hallan la quitina, los beta-glucanos y otros polisacáridos cuya composición varía en las diferentes fases del cultivo. También se ha podido comprobar la presencia de 3-O-metilmanosa, un carbohidrato que sólo se había encontrado en tres especies bacterianas. Algunos de estos componentes han sido estudiados con vista a su posible utilización con fines vacunales. Entre estos se han identificado las proteínas de 58 y 66 kDa de la pared externa de la esférula, las cuales han demostrado inmunoprotección en animales de experimentación. Igualmente, en la actualidad se hacen estudios con un antígeno hidrosoluble obtenido de la fase miceliana, el que también ha demostrado sus potencialidades en este sentido.

PATOGENIA Y DATOS CLÍNICOS

Los arthroconidios de *C. immitis* penetran por vía respiratoria y son transportados hasta los bronquios terminales y alveolos, generando así el contacto con el organismo; la respuesta del hospedero se manifiesta a través de los granulocitos neutrófilos, la activación de los macrófagos y la sensibilización de los linfocitos T. En la mayor parte de los casos, los conidios son destruidos o fagocitados, pero cuando no sucede esto, proliferan induciendo una respuesta inflamatoria que origina la primoinfección, similar a la tuberculosa, que en la mayor parte de los casos (60 a 75 %) es asintomática; el resto (25 a 40 %) cursa con síntomas banales que son fácilmente confundibles con resfriados o gripes. Sólo en una baja proporción, a partir de un cuadro pulmonar primario, la enfermedad tiende a diseminarse por vías linfáticas o hematógenas hacia otros órganos, por lo general con un mal pronóstico.

Formas clínicas de la coccidioidomicosis

Pulmonar aguda. Los signos y síntomas se hacen evidentes aproximadamente a los 15 a 20 días posteriores a la inhalación del hongo y se caracterizan por un cuadro respiratorio que puede confundirse con un estado gripal o resfriado común con fiebre, cefalea, escalofríos, sudaciones nocturnas y tos seca. Las imágenes radiográficas son de gran utilidad para evidenciar daño en ambos campos pulmonares. En ocasiones, las manifestaciones pueden ser más severas, con fiebre constante, tos con expectoración mucopurulenta y hemoptisis, con ataque al estado general, anorexia, dolor pleural y artralgias. En algunos pacientes se pueden presentar eritema nudoso o eritema multiforme con "rash" y adenopatías cervicales, axilares e inguinales. Este síndrome complejo se conoce como "fiebre del Valle" o "reumatismo del desierto", y muchas veces resuelve de modo espontáneo.

Crónica. Ocurre en pacientes en los que persisten los síntomas y anomalías radiológicas, acompañada de lesiones nodulares y cavitarias. La resolución de estas se acompaña de bronquiectasia, fibrosis y calcificación.

Coccidioidoma. Es una forma residual crónica. Se inicia a partir de una neumonía o de hipersensibilidad exagerada, y se localiza en cavidades pulmonares. En general son únicos, pero eventualmente se pueden observar lesiones múltiples. Es importante el diagnóstico diferencial con neoplasias.

Diseminada. Afecta casi siempre a pacientes con inmunodeficiencias, niños desnutridos, mujeres embarazadas, etc. A partir de un foco miliar, la enfermedad se disemina por vía linfática y hematógena, alcanzando tejido celular subcutáneo, ganglios, Sistema Nervioso Central, órganos internos, huesos y articulaciones, y causando fungemia. La diseminación más frecuente del SNC ocurre en las meninges, dando lugar a un cuadro de meningitis de evolución aguda o crónica. Es frecuente observar lesiones en piel como fístulas, úlceras y nódulos. La mayoría de las veces es mortal. Esta forma clínica se ha presentado en los pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana en regiones endémicas de los EE. UU. y México. En estos pacientes con SIDA, la coccidioidomicosis suele presentarse con neumonitis reticulonodular difusa rápidamente mortal.

Primaria cutánea. Es bastante rara como entidad primaria. Comienza por la implantación traumática, por vía cutánea, de los conidios de *C. immitis*, que da lugar a un complejo

primario similar al de la esporotricosis, con la formación de un chancro con linfangitis y adenitis el cual puede originar una lesión verrucosa o involucionar completamente.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Productos patológicos. De acuerdo con las manifestaciones clínicas, para llegar al diagnóstico de laboratorio, las muestras clínicas más frecuentes son: esputos, lavados bronquiales, LCR, orina, escamas de lesiones en piel, pus de abscesos y biopsias.

Examen directo. Debido al riesgo biológico que representa la identificación a partir de los cultivos, se le concede gran importancia al examen microscópico directo de los productos patológicos. Consiste en la observación microscópica entre cubre y portaobjeto con KOH (20 %) de las muestras obtenidas; también puede realizarse este examen con blanco de calcoflúor. Se deben observar esférulas de aproximadamente 20 a 80 μ m de diámetro, con una pared gruesa y refringente (hasta 2 μ m), con endosporas en su interior (2 a 5 μ m de diámetro como promedio). Estas esférulas maduras, en ocasiones pudieran ser confundidas con los esporangios de *Rhinosporidium seeberi*, agente etiológico de la rinosporidiosis, aunque estos son más grandes y contienen, en su interior, endosporas más pequeñas que las de *C. immitis*. En cortes histológicos, mediante coloraciones de PAS o metenammina de plata, las características del hongo son las ya mencionadas.

Cultivo. Las muestras deben ser sembradas en agar Sabouraud y agar Sabouraud con cloranfenicol y cicloheximida e incubados a temperatura ambiente (25 a 30 °C), al menos durante 2 a 3 semanas; deben sembrarse en tubos y nunca en placas de Petri; los exámenes microscópicos directos de los cultivos deben realizarse, de preferencia, a las colonias jóvenes, en las cuales la producción de conidios aún es escasa, para que el riesgo de formación de aerosoles sea mínimo.

Pruebas serológicas

Para la detección de anticuerpos específicos en la coccidioidomicosis se han usado diversas pruebas serológicas. La aglutinación de látex y la precipitación en tubos para la detección de anticuerpos IgM se hacen positivas tempranamente en las formas primarias (2 a 3 semanas), pero pueden presentarse falsos positivos, por lo que se recomienda la confirmación por otras pruebas más específicas. La mejor prueba es la fijación del complemento para la detección de IgG, por su valor diagnóstico y pronóstico. Los títulos se mantienen altos durante el curso de las formas severas y bajan cuando hay mejoría. La inmunodifusión doble permite detectar la banda F específica. No obstante, su hallazgo hay que correlacionarlo con otras pruebas, con la clínica y la radiografía de tórax.

Las pruebas para la detección de antigenemia (mediante métodos inmunoenzimáticos y radioinmunoensayo) en la coccidioidomicosis hasta el momento no están lo suficientemente estandarizadas.

Prueba cutánea

Al igual que en otras micosis, esta prueba se realiza de manera similar a la prueba de tuberculina. Existen dos antígenos para estas pruebas: la coccidioidina, obtenida a partir de la fase filamentosa, y la esferulina, obtenida a partir de las esférulas de *C. immitis*. Ambas tienen valor diagnóstico, ya que los enfermos con cualquiera de las formas clínicas, siempre reaccionan a estos antígenos. Una conversión negativa de estas pruebas en el curso de la enfermedad indica anergia y es de muy mal pronóstico.

TRATAMIENTO

Aunque en la mayoría de los individuos inmunocompetentes la infección primaria cura espontáneamente, la anfotericina B es la droga de elección, sobre todo en los casos diseminados y graves. Sus efectos adversos son bien conocidos: cefalea, náuseas, vómitos, esca-

lofríos, daño hepático y renal, entre otros, por lo que su administración debe realizarse bajo estricto control facultativo. En la meningitis coccidioidal se recomienda la administración por vía intratecal de anfotericina B, aunque muchas veces los resultados son pobres.

El ketoconazol ha sido útil en la infección primaria sintomática con buen pronóstico. En casos de enfermedad progresiva o diseminada su acción es limitada. En dosis muy elevadas puede tener efectos hepatotóxicos y antiandrogénicos, los cuales pueden considerarse mínimos en comparación con los de la anfotericina B. El itraconazol también ha sido empleado, con resultados superiores a los del ketoconazol y sus efectos tóxicos son mucho menores. El uso combinado de cualquiera de estos azoles con anfotericina B parece ser una buena opción terapéutica que se encuentra en estos momentos en evaluación. En ocasiones es necesaria la resección quirúrgica de cavidades pulmonares colonizadas.

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL

Las principales zonas endémicas se encuentran en el continente americano, desde el sur de los Estados Unidos hasta Argentina, y se caracterizan por presentar un clima semiárido, con tierras arcillosas y arenosas, y precipitaciones anuales de 150 a 500 mm, temperatura promedio de 28 °C en verano y 7 °C en invierno. Estas zonas, generalmente, presentan una flora constituida por cactáceas y pequeños arbustos, y una fauna escasa, integrada en lo fundamental por reptiles y pequeños mamíferos (ratones, zarigüellas, ardillas de tierra, etc.) que pueden desempeñar el papel de vectores indirectos de la enfermedad. En Cuba nunca ha sido reportada esta micosis.

El suelo constituye el principal reservorio de *C. immitis*, especialmente en estercoleros y madrigueras de roedores y sus zonas vecinas. Se considera un saprófito ambiental que se aísla con frecuencia del suelo en regiones endémicas.

La coccidioidomycosis se adquiere por vía respiratoria, mediante la inhalación del aire que contiene arthroconidios en suspensión; aunque en los pocos casos de la forma cutánea primaria, la vía de entrada es a través de traumatismos en la piel. No se transmite de persona a persona ni de animales infectados y el período de incubación no es bien conocido, pero se cree que fluctúa entre las 2 a 4 semanas. Para los casos cutáneos que se originan a partir de la inoculación del hongo, se presume que puede ser de 20 días hasta meses. Al igual que el hombre, pueden infectarse de la misma manera otros mamíferos, tales como: perros, gatos, caballos, burros, bovinos, ovejas, llamas, cerdos, roedores, coyotes, chinchillas, etcétera.

En las regiones endémicas, el hongo es muy común en el ambiente y las infecciones humanas son frecuentes; sin embargo, la enfermedad es menos usual, por lo que se considera que existe cierta resistencia a la misma en individuos sanos en las zonas endémicas. Luego de la infección hay inmunidad duradera, aunque pueden observarse reactivaciones en inmunodeprimidos.

La coccidioidomycosis se ha presentado en todas las edades. En niños existe una mayor posibilidad de diseminación de la enfermedad, aunque no tan marcada como en la histoplasmosis. Es más frecuente en individuos que están en contacto con la tierra, como campesinos, mineros, etc. La infección pulmonar primaria abunda más en hombres que en mujeres. Antes de la pubertad ambos sexos responden de la misma manera a la infección pulmonar; sin embargo, después de esta edad, es posible observar algunas manifestaciones de tipo alérgico como el eritema nudoso más comúnmente en las mujeres (25 %) que en los hombres (5 %).

Se han sugerido algunas medidas de control como son las de tipo informativo, en particular acerca de los factores predisponentes y las actividades que generan aerosoles de polvo contaminado. Para la realización de este tipo de actividades en áreas endémicas, se recomienda el uso de mascarillas, humedecer la tierra, así como también el empleo de sustancias fungicidas, como el 1-cloro-2-nitropropano, para la decontaminación de suelos.

PARACOCIDIODES BRASILIENSIS

Paracoccidioides brasiliensis es un hongo dimórfico, agente etiológico de la paracoccidioidomycosis (antes conocida como blastomycosis suramericana), una micosis

sistémica del continente americano, de curso agudo, subagudo o crónico, que se caracteriza por presentar lesiones pulmonares primarias casi siempre asintomáticas, de donde se disemina a mucosa orofaríngea, ganglios linfáticos, piel y diversos órganos de la economía. No se conoce su fase sexual o estado teleomorfo.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

A temperatura de 25 a 30 °C, en los medios de cultivo habituales, como agar Sabouraud y agar Sabouraud con antibióticos, crece muy lentamente, dando lugar a colonias blancas, algodonosas, las cuales no pueden ser diferenciadas macroscópicamente de otros hongos patógenos como *Blastomyces dermatitidis* o *Histoplasma capsulatum*. Al microscopio se pueden observar filamentos micelianos tabicados y clamidosporas terminales o intercalares, de 4 a 6 μ m de diámetro y escasos conidios piriformes, de 2 a 3 μ m, sobre conidióforos cortos.

Cuando se cultiva a 37 °C, en agar sangre u otro medio enriquecido, se desarrolla la fase levaduriforme con colonias de aspecto cremoso, rugoso o cerebriforme, de color blanco amarillento, entre 10 a 15 días; microscópicamente se observan unas típicas levaduras redondas, que pueden medir entre 10 y 40 μ m de diámetro, rodeadas de uno o varios brotes o yemas (2 a 6 μ m), unidos a la célula madre por una base estrecha. Esta es la típica imagen de "timón de barco" o de "huella de oso". La demostración del dimorfismo, mediante la conversión de la fase miceliana (M) a levaduriforme (L) y viceversa, resulta de gran valor en la identificación de *P. brasiliensis*. La obtención de la fase levaduriforme puede lograrse *in vivo* mediante la inoculación experimental en animales de laboratorio (ratones y cobayos son los más susceptibles). La prueba de exoantígenos, por su elevada especificidad, se considera confirmatoria para la identificación de los cultivos sospechosos de *P. brasiliensis*, en particular de fase filamentosa.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Se han encontrado diferencias antigénicas entre las fases miceliana y levaduriforme de *P. brasiliensis*; la pared de la fase L está formada, principalmente, por quitina y alfa-glucanos, mientras que la de la M por quitina y beta-glucanos. Ha sido reconocido un antígeno glicoproteico de 43 kDa (gp43), específico de este hongo, de gran utilidad en las pruebas de inmunodiagnóstico. Aunque hasta el presente no se han obtenido inmunógenos con actividad protectora específica, actualmente las investigaciones se centran en las potencialidades que en este sentido tiene el gp43.

PATOGENIA Y DATOS CLÍNICOS

La inhalación de los conidios del hongo a través de las vías respiratorias, genera el primocontacto pulmonar, el cual se caracteriza por dar una reacción inflamatoria aguda, que posteriormente puede pasar a los ganglios linfáticos hiliares; la primoinfección se presenta de forma asintomática; dependiendo del estado inmune del paciente, se disemina por vía linfática o hematogena al tegumento cutáneo (mucosas y piel) y ganglios linfáticos, pero también se pueden afectar las vísceras, en especial el tracto gastrointestinal, bazo, suprarrenales, etcétera.

La infección pulmonar es asintomática en el 95 % de los casos y sólo es detectable por el viraje de la intradermorreacción con paracoccidioidina, por alteraciones pulmonares radiológicas y por la presencia de antígenos específicos en el suero de los pacientes.

Formas clínicas de la paracoccidioidomicosis

Pulmonar aguda. Presenta sintomatología no específica. En sus inicios hay alveolitis, adenopatía hilar; puede haber fiebre o no, ligera disnea y tos. Radiológicamente se observan infiltrados pulmonares bilaterales en regiones nodulares que pueden ir de moderados a exagerados, abarcando totalmente los campos pulmonares. Puede confundirse con otras

micosis como la histoplasmosis. Se ha presentado en inmunodeprimidos, en los cuales la enfermedad se hace progresiva y rápidamente fatal.

Pulmonar crónica. Se manifiesta en casi el 50 % de los casos, caracterizada por insuficiencia respiratoria, estertores, dolor torácico y tos con expectoración purulenta y hemoptoica. Radiológicamente se observan infiltrados bilaterales extensos y presencia de nódulos. Puede producir fibrosis extensa y deterioro de las funciones respiratorias cuando la infección es progresiva. Son frecuentes también las lesiones mucocutáneas.

Diseminada. Se presenta por la diseminación hematógena a partir de un foco primario pulmonar. Puede afectar uno o varios órganos de diferentes sistemas, pero las principales localizaciones son mucocutáneas, pulmonares, ganglionares, suprarrenales, tracto gastrointestinal y Sistema Nervioso Central. Las lesiones en la piel y en la mucosa de la orofaringe son típicas de la enfermedad. Estas lesiones se inician con pápulas que posteriormente se ulceran y toman un aspecto irregular y variado. Al principio las lesiones no son dolorosas y cuando se extienden, pueden causar destrucción del tejido y perforación del paladar. Se ven afectados los ganglios cervicales y eventualmente pueden supurar. Otros sistemas como el genitourinario y el óseo son rara vez afectados. En dependencia de las manifestaciones clínicas es importante hacer diagnóstico diferencial con otras micosis, tuberculosis, leishmaniasis, actinomicosis cervicofacial, sífilis tardía, linfomas y enfermedad de Addison, entre otras. Se conocen muy pocos casos de paracoccidioidomicosis diseminada asociada al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Productos patológicos. Las muestras o productos patológicos más útiles para el diagnóstico de laboratorio de la paracoccidioidomicosis son: esputo, lavado bronquial, exudados y pus de lesiones de piel y mucosas; en los casos ganglionares o viscerales son útiles fragmentos de biopsia.

Examen directo. Se realiza entre cubre y portaobjeto con KOH (20 %). También puede realizarse examen microscópico en fresco y con blanco de calcoflúor. Se observan levaduras multigemantes, formadas por una célula madre con una o más células hijas dispuestas a su alrededor; esta imagen permite realizar el diagnóstico con un elevado grado de certeza. Es posible ver cadenas cortas de blastoconidios y células con gemación única, que pueden medir entre 3 y 40 μ m. La observación de cortes histológicos debe realizarse con coloraciones de PAS y metenamina de plata.

Cultivo. Las muestras deben sembrarse en agar Sabouraud e incubar entre 25 y 30 °C; para confirmar su carácter dimórfico se debe realizar una réplica a 37 °C en medios enriquecidos como agar-sangre o agar-chocolate para obtener la fase levaduriforme. La forma filamentosa del hongo es la infectante, por lo que es indispensable extremar las medidas de bioseguridad al manipular los cultivos. El tiempo de desarrollo es variable; aunque algunas colonias pueden crecer en menos tiempo, no se recomienda descartar los cultivos negativos antes de las 12 semanas.

Pruebas serológicas

Las pruebas serológicas son de gran ayuda, sin embargo, deben apoyarse en otros datos clínicos y de laboratorio. Las más utilizadas han sido las que detectan anticuerpos, empleando antígenos específicos del hongo, como la glicoproteína purificada de 43 kDa, mediante las pruebas de inmunodifusión doble, fijación del complemento, ELISA y contraelectroforesis.

La inmunodifusión doble (IDD) ha mostrado una elevada sensibilidad y especificidad; la aparición de bandas específicas (conocidas como b1 y b2) en el suero de un enfermo indica que sufre la enfermedad, lo que debe confirmarse con la demostración del hongo en las muestras clínicas del paciente.

La fijación del complemento (FC) es sensible pero menos específica y permite seguir la evolución del paciente. Títulos altos indican infección activa, mientras que los bajos se relacionan con formas localizadas. Pueden haber reacciones cruzadas con histoplasmosis y

otras micosis, pero a títulos bajos. Se recomienda realizar las dos pruebas simultáneamente (IDD y FC).

Recientemente también se han descrito de forma experimental métodos de detección de antigenemia y antigenuria en pacientes con paracoccidioidomicosis diseminada.

Prueba cutánea

La prueba intradérmica con paracoccidioidina (antígeno polisacárido somático o metabólico obtenido de un cultivo de *P. brasiliensis*), desencadena una respuesta celular de tipo retardado en individuos que hayan estado previamente expuestos al hongo. Su importancia es epidemiológica, pues su valor diagnóstico es limitado debido a las formas residuales, localizadas y alérgicas. Sin embargo, la reacción que cambia de negativa a positiva en un período corto y una reacción positiva en niños de corta edad, son de gran valor diagnóstico. La prueba puede ser negativa en enfermos con formas diseminadas y fases terminales de la enfermedad. Pueden existir reacciones cruzadas con antígenos de *H. capsulatum* y *B. dermatitidis*.

TRATAMIENTO

El tratamiento debe ser prolongado, en especial en las formas diseminadas graves, en las que se recomienda anfotericina B, las sulfonamidas por vía oral durante períodos de hasta 3 años o más también han sido utilizadas desde la década de los años 40. El ketoconazol oral puede emplearse hasta la cura clínica y luego disminuir la dosis durante 1 o 2 años, para evitar las recidivas. La duración del tratamiento debe ser de 3 a 4 semanas en las lesiones cutáneas y mucosas, y de 3 a 6 meses en las pulmonares y ganglionares. El itraconazol se ha empleado con un manejo similar al ketoconazol y su efectividad ha sido superior.

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL

La paracoccidioidomicosis es una micosis restringida al continente americano y específicamente desde México hasta la Argentina, en una zona situada entre los trópicos de Cáncer y de Capricornio. Las principales zonas endémicas se encuentran en Brasil, Colombia, Venezuela, Argentina, México y Paraguay. Se han reportado casos en casi todos los países del área, exceptuando Chile, Surinam, Guyana y las Antillas. Nunca ha sido observada en Cuba. Los pocos casos conocidos fuera del continente han sido pacientes que habían visitado o residido en algún país de la región.

En zonas endémicas la distribución no es homogénea, sino que se restringe a áreas con ciertas características ecológicas: temperatura entre 12 y 27 °C, precipitación media anual de 800 a 2 000 mm y entre 300 y 1 500 m de altitud. Tales nichos han sido llamados *reserváreas* (áreas de reservorios). Aunque los aislamientos de *P. brasiliensis* del suelo han sido muy escasos, se considera que este sea su hábitat natural, especialmente en las mencionadas zonas endémicas.

El hombre es el único hospedero conocido. No hay transmisión de persona a persona, ni tampoco se han informado epidemias. El hombre se infecta por vía respiratoria y en raras ocasiones el hongo puede ingresar por traumatismos de piel o mucosas. La enfermedad se presenta con mayor frecuencia en hombres, predominando en una relación de 10:1 con respecto al sexo femenino; esto se ha explicado por la relativa protección que brindan las hormonas femeninas debido a su efecto inhibitorio sobre *P. brasiliensis*. Se ha visto en todas las edades, aunque la mayor incidencia se presenta entre los 30 y 60 años.

Es una micosis propia de agricultores y campesinos, en especial los que trabajan en áreas cafetaleras de América Latina (60 % de los casos). La enfermedad se encuentra con mayor frecuencia en los nativos y mestizos que viven en las zonas endémicas, por ser los que están más expuestos al contacto con el hongo. Hasta el presente, el período de incubación no ha podido ser precisado, pero puede llegar a ser de varios años.

Como única medida de prevención y control de la enfermedad se ha señalado la información sobre la misma al personal médico y a la comunidad de las áreas endémicas, pero no existen medidas preventivas específicas. No hay vacunas disponibles.

BLASTOMYCES DERMATITIDIS

Blastomyces dermatitidis es un hongo dimórfico, saprófito del suelo. Es el agente causal de la blastomicosis (antes conocida como blastomicosis norteamericana), enfermedad granulomatosa crónica, que afecta pulmones, piel, huesos, entre otros. Su estado teleomorfo es un ascomiceto conocido como *Ajellomyces dermatitidis*.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Cuando crece en medios de cultivo a temperatura ambiente (20 a 30 °C), se presenta como un hongo filamentosos, cuya morfología macroscópica y velocidad de crecimiento son muy variables: pueden observarse colonias planas y lisas, colonias con anillos concéntricos y colonias plegadas y algodonosas, de colores que varían desde el blanco hasta el pardo. Desde el punto de vista microscópico, se observan hifas ramificadas, tabicadas, hialinas, con conidios ovoides, que miden de 2 a 10 μ m de diámetro, desarrollados sobre conidióforos cortos.

Cuando crece sobre medios de cultivo enriquecidos, a 37 °C, o en los tejidos del hospedero, se presenta como grandes levaduras (8 a 12 μ m de diámetro), de paredes gruesas, con una única yema o célula hija, la cual permanece unida a la célula madre por una base ancha y llega a alcanzar su mismo tamaño. La demostración del dimorfismo constituye un elemento de gran valor en la identificación de *B. dermatitidis*. La prueba de exoantígenos se considera, en la actualidad, una herramienta diagnóstica de gran utilidad. El uso de sondas no radioactivas de ADN (Gen-Probe Inc.) constituye un método de gran especificidad para la identificación de este patógeno.

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Se han reconocido dos serotipos de *Blastomyces dermatitidis*. El serotipo 1 posee dos antígenos específicos denominados A y K, y el serotipo 2 tiene sólo el antígeno K. La mayoría de las cepas africanas de *B. dermatitidis* pertenecen al segundo serotipo y difieren de los aislamientos norteamericanos (EE. UU., Canadá, México) en su morfología colonial y microscópica, especialmente por la presencia de conidios de paredes rugosas. La caracterización de estos antígenos, en particular el A, ha contribuido en gran medida a mejorar el serodiagnóstico de la blastomicosis. Más recientemente se ha obtenido, a partir del antígeno A, una proteína de la pared celular de 120 kDa, que ha sido empleada en el diagnóstico mediante radioinmunoensayo con excelente especificidad y buena sensibilidad. También se ha identificado un antígeno proteico (WI-1) de la superficie de las células levaduriformes de *B. dermatitidis*, el cual estimula una respuesta inmune protectora en ratones, por lo que continúa en estudio como posible candidato vacunal.

PATOGENIA Y DATOS CLÍNICOS

La blastomicosis se inicia con la inhalación de los conidios de *B. dermatitidis* hacia los pulmones. Si el hongo es capaz de evadir los mecanismos inespecíficos de defensa, entonces tiene lugar la transición a levaduras. Al llegar a los alveolos, se desarrolla primeramente una respuesta supurativa seguida por la formación de granulomas. Esta respuesta de neutrófilos, junto con células mononucleares, es característica de la blastomicosis; también puede haber necrosis y fibrosis. En algunos casos puede ocurrir resolución espontánea del proceso neumónico. También se conocen casos de reactivación endógena tanto pulmonar como extrapulmonar. A partir del foco pulmonar puede diseminarse y manifestarse en diferentes formas clínicas: pulmonar, cutánea, ósea y diseminada.

Formas clínicas de la blastomicosis

Pulmonar. Al igual que en otras micosis sistémicas, la mayoría de las infecciones pulmonares son subclínicas o asintomáticas. Sólo entre el 1 a 5 % de los casos puede presentar síntomas: fiebre leve, disnea, tos con expectoración purulenta o hemoptoica. También puede presentarse dolor torácico y pleural. En la radiografía de tórax puede apreciarse infiltrado miliar y opacidades bronconeumónicas. La extensión de la lesión es posible que varíe, pudiendo alcanzar extensas áreas de necrosis con abscesos múltiples que involucran gran área del parénquima pulmonar. En casos muy agudos la enfermedad puede ser fatal en 2 a 3 semanas. A partir del foco primario pulmonar, la blastomicosis se disemina por extensión o por vía linfática a partir de ganglios linfáticos regionales, y puede llegar a afectar, principalmente, piel, huesos y órganos internos.

Cutánea. La forma cutánea primaria es rara y se debe a la implantación traumática del hongo, por lo general, en los miembros y la cara. A partir de la segunda semana se desarrolla un chancro con linfangitis y adenitis que puede involucionar o continuar desarrollándose afectando los linfáticos regionales para dar lugar a lesiones papulonodulares y la formación de una placa verrucosa vegetante. La forma cutánea secundaria ocurre por diseminación hemática a partir de un foco pulmonar. Inicialmente se observan pápulas que originan nódulos eritemato-violáceos, los cuales tienden a formar abscesos y úlceras. En casos crónicos, se ven placas verrucosas vegetantes semejantes a las de la esporotricosis o la tuberculosis verrucosa.

Ósea. Una gran parte de los casos (30 a 60 %) de blastomicosis cursan con compromiso óseo. Puede afectar huesos largos y cortos, y tiene especial preferencia por vértebras y costillas, en las cuales produce periostitis, osteofibrosis y osteólisis. Estas lesiones pueden permanecer ocultas y sólo evidenciarse por el dolor óseo.

Diseminada. La blastomicosis diseminada es poco frecuente y de mal pronóstico. Tiene lugar a partir del foco primario pulmonar y puede afectar diversos órganos y sistemas, con especial predilección por huesos, piel, hígado y tracto genitourinario.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Productos patológicos. Dependiendo de la variedad clínica, las muestras más frecuentes son: esputo, lavado bronquial, pus, exudados, escamas, orina y biopsias.

Examen directo. Para la observación microscópica, el material recolectado se coloca entre cubre y portaobjeto con KOH al 20 %; también puede verse la muestra con blanco de calcoflúor. Al microscopio se observan levaduras grandes (8 a 15 μ m de diámetro), esféricas, monogemantes, de pared gruesa y refringente. La célula hija aparece, generalmente, del mismo tamaño o algo más pequeña que la célula madre y se mantiene unida a ella por una base gruesa y ancha. Estas mismas estructuras se pueden observar en cortes histológicos con coloraciones de PAS y metenammina de plata.

Cultivo. Cuando se siembra la muestra en los medios de agar Sabouraud y agar Sabouraud con cloranfenicol (no se recomiendan medios con cicloheximida), incubados a 28 °C, se forman colonias filamentosas, limitadas, ligeramente húmedas, de color blanco, que se desarrollan lentamente, entre 2 semanas hasta 2 meses. En los medios de agar-sangre y agar-chocolate, incubados a 37 °C, se obtienen colonias levaduriformes en un tiempo promedio de 2 a 4 semanas.

Pruebas serológicas

Para la detección de anticuerpos, empleando el antígeno A, son útiles las pruebas de inmunodifusión doble y fijación del complemento por su elevada especificidad (100 %), aunque la sensibilidad ha oscilado entre 40 y 65 %. También se han usado los ensayos inmunoenzimáticos con buena sensibilidad (80 a 90 %) y especificidad (98 a 100 %). Cuando se emplean antígenos menos purificados, se pueden presentar reacciones cruzadas con otros antígenos fúngicos (*Histoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis*). No están disponibles pruebas para la detección de antígeno en muestras clínicas.

TRATAMIENTO

El tratamiento de elección para todas las formas clínicas de la blastomicosis es la anfotericina B.

El ketoconazol e itraconazol por vía oral se pueden emplear asociados a la anfotericina B, o bien en los casos menos graves. El tiempo de terapia debe ser hasta la cura clínica y para evitar recidivas es necesario dejar un margen de 1 a 2 años con los compuestos azólicos o con yoduro de potasio por vía oral. La experiencia con el fluconazol no ha sido muy satisfactoria, aunque el número de ocurrencias ha sido limitado. La terapéutica con itraconazol parece ser prometedora y en algunos casos puede sustituir a la anfotericina B como droga de elección.

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL

El foco endémico más importante de blastomicosis se encuentra en los EE. UU., especialmente en los valles de los ríos Ohio y Mississippi. Otros focos endémicos se han localizado en Canadá, México y Centroamérica; y más recientemente en África, India y Japón. Nunca ha sido descrita en Cuba.

Blastomyces dermatitidis se ha aislado del suelo y detritus vegetal en muy pocas ocasiones, por lo que su nicho ecológico no es bien conocido. Se ha logrado cultivar a partir de muestras de gallineros, lugares frecuentados por ganado y caballos, en suelos ricos en materia orgánica y elevada humedad. No se ha reportado transmisión interhumanos ni tampoco de animales al hombre. La enfermedad también ha sido descrita en algunas especies animales, particularmente en perros; con menos frecuencia en caballos y animales salvajes como castores, mapaches y hurones. Las pocas epidemias conocidas han estado relacionadas con visitas a lugares cercanos a ríos u otros cuerpos de agua, frecuentados por castores. Se han descrito también algunas epidemias urbanas.

La vía de entrada más común es a través del tracto respiratorio, aunque también se han conocido formas cutáneas primarias originadas por traumatismos. De forma excepcional se ha demostrado la transmisión de persona a persona por contacto sexual, ya que *B. dermatitidis* se ha aislado del semen de enfermos. No se ha podido precisar el período de incubación.

La blastomicosis se observa con mayor asiduidad en el sexo masculino, en una proporción de 4:1, en relación con las mujeres; se ha reportado en todas las edades, siendo más frecuente entre los 20 y 60 años. Al igual que otras micosis sistémicas, la enfermedad es más común en trabajadores rurales, agricultores, campesinos, cazadores, arqueólogos, etcétera.

No existen medidas de control de la enfermedad debido al poco conocimiento que se tiene sobre la fuente de infección.

RESUMEN

Coccidioides immitis, *Paracoccidioides brasiliensis* y *Blastomyces dermatitidis* son hongos dimorfos que producen micosis profundas o sistémicas; se adquieren por la inhalación de conidios infectantes del hongo.

Afectan primariamente el pulmón de donde se diseminan a otros sistemas de nuestro organismo, entre ellos la piel, ganglios linfáticos y otros.

El diagnóstico de laboratorio se realiza mediante el examen microscópico y cultivo de los productos patológicos, lo que permite su aislamiento e identificación. Las pruebas serológicas son de gran utilidad.

No se transmiten de hombre a hombre ni de animal al hombre; son más frecuentes en hombres que en mujeres.

El hábitat natural de estos hongos es el suelo.

Coccidioides immitis ha sido reportado en el continente americano desde el sur de Estados Unidos hasta Argentina; *Paracoccidioides brasiliensis*, en zonas endémicas de América Latina; y *Blastomyces dermatitidis*, en Estados Unidos, Canadá, México y con menos frecuencia en otros países de América Latina, África y la India.

En todas, el tratamiento de elección es la anfotericina B, aunque pueden utilizarse el itraconazol y el ketoconazol.

BIBLIOGRAFÍA

- Bonifaz A. Micología Médica Básica. México D.F.: Ed. Fco. Méndez Cervantes, 1991.
- Kaufman L. Laboratory methods for the diagnosis and confirmation of systemic mycoses. Clin Infect Dis 1992;14 (Suppl 1):S23-9.
- Lacaz CS, Porto E, Heins-Vaccari EM, Melo NT. Guia para identificação. Fungos, actinomicetos, algas de interesse médico. São Paulo: Sarvier, 1998.
- Rippon JW. Medical Mycology. The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Co., 1988.
- Torres-Rodríguez JM. Monografías Clínicas en Enfermedades Infecciosas. Barcelona: Ed. Doyma, 1991.



***Aspergillus* y hongos causantes de mucormicosis**

Sonia Moya Duque

ASPERGILLUS

La aspergilosis involucra una serie de enfermedades, la mayoría de ellas de tipo oportunista, causadas por algunas especies del género *Aspergillus*, siendo las más frecuentes: el *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus* y *A. clavatus*.

La aspergilosis sistémica es una micosis oportunista que forma parte de una extensa gama de procesos patológicos producidos por un moho habitualmente saprófito y que producen alergia respiratoria, micotoxicosis e infecciones superficiales tales como otomicosis y onicomosis. Puede ocasionar padecimiento a nivel pulmonar y oftálmico.

La palabra *Aspergillus* fue originalmente usada por Micheli en 1729, por la similitud microscópica que tiene con el *aspergillum* (del latín *asperge*, que significa rociar o esparcir), instrumento que se usa en las ceremonias religiosas para la bendición.

Los primeros casos de aspergilosis fueron vistos en animales (pájaros) y el primer reporte de un humano correspondió a una aspergilosis broncopulmonar realizado por Virchow en 1856.

La asociación entre la aspergilosis y la tuberculosis pulmonar se reconoce a partir de 1926.

En las últimas décadas se ha comprobado la importancia de las infecciones viscerales y diseminadas invasivas en enfermos inmunodeprimidos, habiéndose publicado varios trabajos donde se mencionan epidemias de infección nosocomial por *Aspergillus*, por lo que este microorganismo ha pasado a ocupar un importante papel como agente de micosis oportunistas del enfermo inmunodeprimido. La aspergilosis invasiva es una infección de difícil diagnóstico y tratamiento, cuya evolución es fatal en la mayoría de los casos.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Crece en los medios de cultivo ordinarios como Sabouraud y papa dextrosa agar (PDA) a 28 °C. Las colonias se desarrollan rápidamente de 3 a 5 días. Estas varían según las especies

en cuanto a su textura, pudiendo ser planas, granulosas, polvosas, aterciopeladas, tomando diferentes tonalidades en su pigmento que van desde color negro (*A. niger*), verde (*A. fumigatus*), verde amarillento (*A. flavus*) y beige (*A. terreus*).

En la microscopia se observan las siguientes estructuras anamórficas:

Conidióforo. Es una hifa erecta, de pared gruesa, que se produce en el micelio aéreo en forma perpendicular al sustrato, y que suele nacer de la llamada célula pie (*foot cell*); salvo excepciones, los conidióforos no son ramificados, pueden ser lisos o rugosos (grupo *A. flavus*), pigmentados o hialinos. Su extremo terminal se dilata constituyendo la vesícula.

Vesícula. Es la parte apical del conidióforo; puede tener forma globosa, elíptica, hemisférica o de moza.

Fiálides. Son las estructuras digitiformes productoras de los conidios que se desarrollan en la zona fértil de la vesícula.

Conidios. Son esporas o propágulos asexuales unicelulares que se originan en el extremo más estrechado de las fiálides. Su forma es globosa, ovalada o elíptica, y su superficie puede ser lisa, rugosa o equinulada y de color variable, que determina el de la cabeza conidial y de toda la colonia. Los conidios son hidrofóbicos y secos, fácilmente transportables por el aire.

Cabeza conidial. Está constituida por los elementos descritos anteriormente y tiene importancia básica como criterio de identificación y clasificación de *Aspergillus*.

Existen otras estructuras de interés en la identificación de grupos y especies como: células de Hülle, esclerocios y ascocarpos (estructura sexual).

PATOGENIA Y DATOS CLÍNICOS

La presencia en la atmósfera de conidios de diferentes *Aspergillus* pueden ocasionar enfermedad en el hombre, que se manifiesta por diversos mecanismos patogénicos:

Por procesos de hipersensibilidad en sujetos con atopía, ocasionando asma, rinitis y aspergilosis broncopulmonar alérgica.

Por procesos de hipersensibilidad en sujetos no atópicos, causando broncoalveolitis alérgica.

Por infecciones superficiales, ocasionando infecciones ungueales o micosis del conducto auditivo externo.

Por infecciones viscerales no invasivas que afectan las cavidades sinusales, pulmonares o pleurales.

Por infecciones viscerales invasivas: aspergilosis pulmonar invasiva y aspergilosis necrotizante crónica.

Algunas especies de *Aspergillus* producen micotoxinas que para algunos autores desempeñan un papel importante en la producción de infecciones.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Productos patológicos. Esputo, productos de raspado de lesiones superficiales, piezas de biopsia, sangre.

Examen directo. La muestra se coloca entre porta y cubreobjeto con KOH al 10 % o solución salina. Dependiendo del tipo de aspergilosis, se observa al microscopio lo siguiente: hifas, conidios y las clásicas cabezas aspergilaes (aspergilosis pulmonar, otomicosis y en las saprofitaciones de pacientes quemados). Se ven hifas delgadas, tabicadas y hialinas (oncomicosis y úlceras necróticas).

Cultivo. Se realiza en medio de Sabouraud y papa dextrosa agar (PDA). No debe utilizarse cicloheximida, ya que algunas especies de *Aspergillus* se inhiben en presencia de esta. Los cultivos deben hacerse seriados, por ser estos hongos contaminantes del medio ambiente. El período de incubación es de aproximadamente 1 a 3 días a 28 °C, pues las colonias se desarrollan rápidamente, observándose las clásicas cabezas aspergilaes.

Pruebas serológicas

Estas pruebas son útiles para los casos de aspergilosis pulmonar invasiva, saprofítica y diseminada, siendo necesario correlacionarlas con los datos clínicos y micológicos. Las más utilizadas y efectivas son: la inmunodifusión en gel, fijación del complemento, RIA y ELISA.

Prueba cutánea

Intradermorreacción (extracto de antígeno de *Aspergillus*); valoración de IgE e IgG; valoración nasal (búsqueda de eosinófilos).

Otras pruebas utilizadas

Biopsia. Las biopsias son indispensables para las úlceras cutáneas, observándose en ambos casos granulomas inflamatorios.

Rayos X. Indispensables para las formas pulmonares.

TRATAMIENTO

Como tratamiento tópico se han utilizado: nistatina, solución de tolclato, solución de anfotericina B, solución de ketoconazol.

Se utiliza de forma sistémica: antihistamínicos, desensibilización inmunológica, corticoterapia (prednisona), anfotericina B, itraconazol, anfotericina B (liposomal).

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL

La aspergilosis es una enfermedad cosmopolita. Las diversas especies oportunistas de *Aspergillus* ocupan el primer y segundo lugares dentro de los hongos contaminantes del medio ambiente. Se aísla con frecuencia del aire, tierra, plantas y, en especial, contamina alimentos (carbohidratos y fibras).

La principal vía de entrada al organismo es la respiratoria, aunque las esporas pueden penetrar por traumatismos cutáneos; y en el caso de las otomicosis y onicomosis, sólo por el contacto con las esporas.

La aspergilosis se presenta en ambos sexos y en todas las edades. En cuanto a la ocupación, se observa con mayor frecuencia en personas que manejan granos (maíz, trigo, centeno), alimentos de aves, etc., porque están sujetos a inhalar grandes cantidades de esporas.

El período de incubación es indeterminado.

La mayoría de las veces, la aspergilosis está estrechamente relacionada con factores predisponentes como: desnutrición, inmunodepresión, alcoholismo crónico, carcinoma pulmonar y tuberculosis.

Las medidas profilácticas radican en retirar a los pacientes de la fuente de infección como, por ejemplo, graneros, trilladores, etc.; y las personas inmunocomprometidas y con quemaduras extensas deben mantenerse en áreas estériles o asépticas.

HONGOS CAUSANTES DE MUCORMICOSIS

La mucormicosis es el término con el que se denominan las infecciones oportunistas producidas por especies de hongos pertenecientes al orden Mucorales. Algunos autores prefieren el término *zigomicosis* porque los Mucorales pertenecen a la clase de los zigomicetos y así agrupa a los hongos del orden Entomophthorales, que también ocasionan un tipo particular de micosis.

El primer caso conocido de mucormicosis data de mediados del siglo XIX; el hongo llamado *Mucor* fue aislado de un pulmón en un enfermo con neoplasia. Un siglo más tarde se

demonstró que la forma clínico-patológica más frecuente era la rinocerebral y se definió como infección oportunista. Estos hongos se caracterizan por dar cuadros agudos rinocerebrales y pulmonares, que cursan con trombosis, invasión vascular e infartos. Se presenta en pacientes diabéticos descompensados e inmunosuprimidos.

Se conoce una gran diversidad de agentes etiológicos de mucormicosis, aunque sólo unas pocas especies son aisladas con mayor frecuencia; todas ellas son termotolerantes y la mayoría se puede encontrar creciendo en la naturaleza sobre sustratos orgánicos.

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN

Las principales características de estos hongos son:

Micelio no septado (cenocítico, multinucleado) con reproducción sexuada por producción de zigosporas y reproducción asexuada por esporangiosporas, es decir, endosporas (por lo general) producidas en formaciones más o menos esféricas llamadas esporangios, que están en el extremo terminal de las hifas fértiles denominadas esporangióforos.

Los zigomicetos se clasifican de acuerdo con el origen del esporangióforo, la localización de los rizoides respecto al estolón, así como la forma y tamaño de estas estructuras y de las esporas.

PATOGENIA Y DATOS CLÍNICOS

La mucormicosis es la micosis más aguda y progresiva que se conoce; por lo regular su curso es fatal hasta un 95 % de los casos y este depende de la rapidez con la que se llegue al diagnóstico y se imponga la terapéutica.

Formas clínicas de la mucormicosis

Las formas clínicas más comunes son: rinocerebral, pulmonar, gastrointestinal, cutánea y diseminada.

Una característica llamativa de la patogenia de por lo menos un tercio de los casos, es la *Diabetes mellitus* concomitante. Sin embargo, tiene aún más importancia la cetoacidosis diabética. En el resto de los pacientes casi siempre ha habido alguna otra enfermedad, como leucemias, hipoplasia de médula ósea y procesos malignos. También tiene una participación el tratamiento con corticoesteroides, irradiación, antimetabolitos o fármacos inmunosupresores. Recientemente se ha comunicado un caso de mucormicosis cutánea en un hombre diabético VIH seropositivo.

Rinocerebral. Las esporas de los hongos penetran por aspiración y se extienden a través de los vasos sanguíneos, de los cornetes y senos perinasales, afectando tejido retroorbitario y cerebral; es común observar fenómenos de trombosis e infarto.

La sintomatología clínica más frecuente está compuesta de descargas nasales sanguinolentas oscuras y fétidas, dolor facial, drenaje de pus necrótico de los ojos, inflamación y edema periorbital; pueden presentarse fistulas de las que drena exudado purulento. Los pacientes presentan letargia, cefaleas intensas, fiebre y convulsiones, trombosis e infarto.

Pulmonar. Por lo regular es primaria, aunque raras veces es secundaria de casos rinocerebrales. En general, el padecimiento se presenta como bronquitis o neumonía inespecífica, fiebre, tos con expectoración, hemoptisis, disnea y dolor torácico.

Gastrointestinal. El cuadro clínico corresponde a un infarto gástrico e intestinal. La sintomatología está dada por fiebre, dolor abdominal intenso y difuso, diarrea negruzca y sanguinolenta, dando un aspecto de borra de café.

Cutánea. Regularmente las lesiones son limitadas, induradas, necrosantes, infartadas, de color pardo o negro, que tienden a ulcerarse con un exudado fétido y negro; en ocasiones se presentan fistulas que son el reflejo de un proceso osteolítico.

Diseminada. Aunque la diseminación del hongo puede ser una complicación de cualquier forma de mucormicosis, es una entidad rara y de mal pronóstico, iniciándose como

consecuencia de la diseminación por vía hematogena de mucormicosis pulmonar o rinocerebral, fundamentalmente, generando lesiones trombóticas e infartos en distintos órganos.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Productos patológicos. Espudo, tejido necrótico, exudados, raspado de cornetes superiores.

Examen directo. Se realiza con KOH al 10 %, observándose numerosas hifas cenocíticas (no tabicadas), hialinas, dicotómicas, de aproximadamente 5 μ m de ancho x 20-50 μ m de largo.

Cultivo. Son de menor importancia porque los Mucorales suelen ser flora habitual de las vías respiratorias y son contaminantes muy frecuentes. Los cultivos deben hacerse seriados en Sabouraud agar y papa dextrosa agar, sin cicloheximida, porque son inhibidos por esta.

El período de incubación es de 3 a 5 días a temperatura ambiente, observándose colonias vellosas, algodonosas y blanco-grisáceas.

La tipificación de los hongos se basa en los criterios micromorfológicos y bioquímicos.

Rayos X y tomografía. Útiles para mucormicosis pulmonar y rinocerebral.

Pruebas serológicas

No hay procedimiento serológico ni intradermoreacción para diagnosticar la mucormicosis.

TRATAMIENTO

Por lo general, el tratamiento exitoso de la forma pulmonar se ha efectuado con anfotericina B. En la actualidad se han obtenido buenos resultados cuando se asocian compuestos azólicos sistémicos como ketoconazol e itraconazol. En la forma rinocerebral siempre ha sido necesario el desbridamiento quirúrgico. Es importante el control de la enfermedad de base, principalmente en la acidosis diabética y la hiperglicemia. En los pacientes que reciben inmunosupresores, se recomienda reducir la dosis al mínimo.

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL

La mucormicosis es una enfermedad cosmopolita. La mayoría de los hongos mucorales tienen un hábitat ubicuo, aunque prefieren los climas cálidos y húmedos. Se aíslan con frecuencia del suelo, materia orgánica en descomposición, frutas y sobre todo de pan de trigo y centeno.

También se encuentran en el medio ambiente. Como flora habitual del organismo humano se han aislado de piel, tracto respiratorio, gastrointestinal y urinario.

Vía de entrada: respiratoria en el mayor número de los casos, pero también puede ser oral y cutánea.

Sexo y edad: se presenta con la misma frecuencia en ambos sexos y en todas las edades.

La ocupación y raza no desempeña un papel de importancia en la enfermedad.

Entre los factores predisponentes, los más importantes son: *Diabetes mellitus*, enfermedades hematológicas y una serie de trastornos y enfermedades crónicas como prematuridad, desnutrición, colitis amebiana; y como factores de menor importancia tenemos: la administración de citotóxicos y antibióticos, daños renales, quemaduras e infecciones nosocomiales. En la actualidad se han reportado casos en pacientes con SIDA.

Las medidas profilácticas recomendadas deben ser las empleadas para cualquier paciente inmunodeprimido, como es el aislamiento en áreas estériles e, incluso, es recomendable el empleo a dosis bajas de antimicóticos sistémicos, como el itraconazol, cuando se tengan pacientes diabéticos descompensados o con enfermedades hematológicas como leucemias y linfomas.

RESUMEN

Son hongos oportunistas, cuyas esporas están diseminadas en el medio ambiente y al ponerse en contacto con los tejidos producen enfermedades que pueden ser localizadas o diseminadas.

El diagnóstico se establece por el examen directo, cultivo y estudio histopatológico.

En el tratamiento se utiliza la anfotericina B y el itraconazol, entre otros, dependiendo de la forma clínica.

BIBLIOGRAFÍA

- Binford ChH, Connor DH. Pathology of Tropical and Extraordinary Diseases. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 1976:585-6.
- Bonifaz A. Micología Médica Básica. México D.F.: Ed. Fco. Méndez Cervantes, 1991:187-200.
- Conant Norman F. Manual de Micología Clínica. La Habana: Publicaciones Científicas, 1948:126-45;224-41;271-85.
- Emmons ChW, Binford ChH, Utz JP. Medical Micology. Philadelphia. Lea & Fibeger, 1997:254-304; 386-423;437-70.
- Jawetz E, Melnik JL, Adelberg EA. Micología Médica. Manual de Microbiología Médica. 12da ed. México D.F.: Ed. El Manual Moderno, 1988:278-94.
- Lennette EH, Bolows A, Hausler W. Manual de Microbiología Clínica. 3ra ed. La Habana: Ed. Científico-Técnica, 1982:723.
- Matsumoto S, Wakai Y, Nakai T, Hatavo K et al. Efficacy of FK 463, a new lipopeptide antifungal agent, in mouse models of pulmonary aspergillosis. Antimicrob-Agents Chemother 2000 Mar, 44(3):619.
- Romano MS. Histopatología de las micosis profundas de mayor frecuencia en el Noreste argentino. Arch arg Dermatol 1996;46(4):175 -82.
- Torres Rodríguez M. Micosis Sistémicas. Monografías Clínicas en Enfermedades Infecciosas. Barcelona: Ediciones Doyma, 1991:35-9;59-68;75-80.



Micosis oportunistas en pacientes con SIDA

Gerardo Martínez Machín
María Teresa Illnait Zaragoza

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, la incidencia de las micosis y su repercusión como problema de Salud Pública se ha incrementado considerablemente. Son múltiples los factores que han favorecido este incremento, pero ninguno de ellos ha tenido un impacto tan profundo como el de la epidemia del SIDA, aparecida en los inicios de la década de los años 80.

La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), se caracteriza por un deterioro progresivo de las funciones del sistema inmunitario, que afecta principalmente a los linfocitos T CD₄. En la medida que el número de linfocitos CD₄ decrece, los pacientes seropositivos al VIH se tornan susceptibles a un número creciente de infecciones denominadas, generalmente, como *infecciones oportunistas*.

Estas infecciones producen elevadas tasas de morbilidad y de mortalidad en los pacientes con SIDA, requieren a menudo de la hospitalización para su control, e influyen negativamente en la calidad de vida, así como en el costo de la atención médica.

Más de 100 microorganismos, incluidos virus, bacterias, hongos y protozoos, han sido reportados como causa de infecciones oportunistas en pacientes con SIDA. Pero es mucho menor el número de estos agentes que producen infecciones con periodicidad y severidad tal que se incluyen entre los eventos que definen un caso como SIDA. En el Cuadro 53.1 se relacionan, por orden de frecuencia, las principales infecciones oportunistas marcadoras de SIDA en adultos.

Cuadro 53.1. Infecciones oportunistas más frecuentes

Neumonía por <i>Pneumocystis carinii</i>
Candidiasis esofágica
Infección pulmonar por <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Enfermedad por <i>Mycobacterium avium</i> , <i>M. intracellulare</i> o <i>M. kansasii</i>
Enfermedad por virus del herpes simple
Toxoplasmosis cerebral
Retinitis por Citomegalovirus
Enfermedad por Citomegalovirus (excepto retinitis)
Criptococosis
Infección diseminada por <i>M. tuberculosis</i>
Criptosporidiosis
Candidiasis de bronquios, tráquea o pulmones
Histoplasmosis

Como se puede apreciar, las micosis representan una parte muy importante de las infecciones oportunistas que complican la infección por el VIH. Se ha demostrado que entre el 60 y el 80 % de los pacientes con SIDA padecen, en algún momento de su evolución, una o más infecciones por hongos, y que entre el 10 y el 20 % mueren como resultado directo de las mismas.

Las infecciones por hongos que afectan a los pacientes seropositivos al VIH y enfermos con SIDA pueden agruparse, según su importancia y frecuencia de presentación, en: micosis oportunistas frecuentes (Cuadro 53.2), muchas de las cuales han adoptado formas de presentación más severas y agresivas, con manifestaciones clínicas inusuales e inadecuada respuesta a los esquemas terapéuticos tradicionales; y micosis oportunistas raras o poco frecuentes producidas por nuevos patógenos emergentes. En relación con su espectro clínico, las infecciones por hongos en esta población incluyen desde las micosis superficiales con escasa sintomatología y poca repercusión en lo que al aspecto vital se refiere, hasta las infecciones profundas y diseminadas que comprometen la vida.

En Cuba, un estudio de 211 autopsias de pacientes con infección VIH/SIDA realizadas en un período de 10 años, demostró una frecuencia de micosis invasivas del 44,1 %. La infección por *Pneumocystis carinii* fue la más frecuente (32 %), con predominio de afección pulmonar. La candidiasis le siguió en orden de frecuencia con 31,1 %, predominando las manifestaciones orofaríngeas; la criptococosis cerebromeningea o sistémica resultó un trastorno grave y común (22,9 %). La histoplasmosis diseminada ocurrió en un 9,6 % y en tres casos (3,2 %) se diagnosticó aspergilosis pulmonar. No se identificaron otras micosis menos comunes.

Cuadro 53.2. Hongos patógenos comunes en el curso de la infección por VIH

Microorganismo	Síndrome clínico
<i>Pneumocystis carinii</i>	Neumonía
<i>Candida albicans</i>	Esofagitis
	Candidiasis orofaríngeas
	Vaginitis
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Meningitis
<i>Histoplasma capsulatum</i>	Infección diseminada
<i>Coccidioides immitis</i>	Infección diseminada
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Enfermedad pulmonar
<i>Penicillium marneffeii</i>	Enfermedad pulmonar
	Lesiones cutáneas
	Linfoadenopatías

PNEUMOCISTOSIS

Pneumocystis carinii es conocido desde antes de la aparición del SIDA como oportunista capaz de afectar a pacientes inmunodeprimidos. Con la pandemia ocasionada por el VIH, adquirió un mayor interés clínico por su capacidad de producir neumonías.

Aproximadamente el 75 % de los pacientes con SIDA desarrollan en algún momento de su enfermedad neumonía por *P. carinii*, llegando a reportarse como la enfermedad pulmonar

más importante asociada a este síndrome. En algunos países subdesarrollados como Haití y en el África, la incidencia de pneumocistosis parece ser más baja; esto pudiera ser reflejo de las diferencias en los métodos diagnósticos utilizados y de una mayor mortalidad debido a otras infecciones como tuberculosis, criptococosis, toxoplasmosis, etcétera.

Generalmente este agente no se comporta como patógeno, pero las deficiencias de linfocitos auxiliares proveen la oportunidad para la multiplicación y diseminación. El defecto inmunitario específico que permite la infección aguda fue conocido después de la epidemia del SIDA.

Estudios serológicos realizados han demostrado claramente que existe respuesta humoral frente a *P. carinii*; no obstante, la presencia de anticuerpos específicos no necesariamente confiere inmunidad para la prevención de esta enfermedad. De otra parte, aunque la pneumocistosis puede ocurrir en pacientes con alteraciones de linfocitos B, la gran mayoría de los casos presentan severos defectos de la inmunidad celular, ya que los macrófagos y linfocitos, especialmente CD₄, desempeñan un papel crucial en la defensa del hospedero contra este microorganismo.

El modelo que prevalece para la etiología de esta entidad sugiere que los individuos son infectados tempranamente (se ha demostrado que la mayoría de las personas poseen anticuerpos anti-*P. carinii* desde los 2 años) y que los episodios de neumonía se deben a la reactivación de microorganismos latentes. Esto no excluye que algunos casos resulten de una exposición reciente al microorganismo a partir de una fuente ambiental o de una persona con infección aguda.

Los síntomas y signos de esta enfermedad generalmente se corresponden con los de una neumonía difusa aguda. Los pacientes que reciben aerosoles de pentamidina suelen desarrollar neumonías atípicas y la fiebre puede presentarse como único dato clínico.

Los cuadros extrapulmonares ya habían sido descritos entre los pacientes inmunodeprimidos antes de la epidemia del SIDA, pero en la actualidad se observan con una mayor frecuencia, lo cual puede obedecer a diversos factores: presencia de un mayor número de casos de pneumocistosis, mayor expectativa de vida, uso profiláctico de aerosoles de pentamidina y mejores técnicas diagnósticas. Más de 70 casos de esta enfermedad con compromiso de nódulos linfáticos, hígado, bazo, médula ósea, glándula tiroidea y suprarrenales, páncreas, riñón y corazón, han sido reportados asociados a inmunodepresión severa. También puede presentarse como causa de diarrea o masa polipoide sangrante en oído, casi siempre después de un cuadro de neumonía. En la mayoría de los casos, estas infecciones extrapulmonares por *P. carinii* son graves y en muy pocos se han obtenido éxitos en la terapéutica.

En los pacientes con SIDA se ha reportado con mayor frecuencia las recaídas, respuestas adversas a los medicamentos y ocurrencia simultánea con otros procesos pulmonares como el sarcoma de Kaposi y enfermedad por Citomegalovirus.

Las dificultades que ofrece el cultivo de este agente han traído como consecuencia que muchas de las características biológicas continúen siendo un enigma y que se dificulte el diagnóstico, así como que no se hayan podido desarrollar los estudios de susceptibilidad *in vitro*. No obstante, el efecto del tratamiento puede ser evaluado de forma indirecta por técnicas de biología molecular. Algunos autores sugieren que las variaciones genéticas capaces de alterar la susceptibilidad a los antimicrobianos pudieran ser responsables de la ocurrencia de la enfermedad extrapulmonar.

Aunque ha sido recomendado que las personas con riesgo de adquirir neumonía por *P. carinii* no deben cohabitar con pacientes que la padezcan, esta medida resulta insuficiente para evitar la aparición de la enfermedad. Los adultos y adolescentes VIH positivos deben recibir quimioprofilaxis si presentan conteos de CD₄ < 200 células/mm³, fiebre de origen desconocido de 2 o más semanas de evolución o historia de candidiasis orofaríngea.

CANDIDIASIS

La candidiasis es la infección oportunista más frecuente que padecen los pacientes seropositivos al VIH. La casi totalidad de ellos están colonizados con *Candida* y una gran mayoría, entre el 90 y el 95 %, desarrollan lesiones clínicas en la medida que la infección viral progresa.

Las manifestaciones de esta micosis, en el curso de la infección por VIH, son variadas, aunque con franco predominio de las formas mucocutáneas que involucran orofaringe, vagina y esófago. La candidiasis diseminada o sistémica es, por el contrario, poco frecuente y cuando se presenta, se asocia a neutropenia y(o) uso de catéteres intravenosos. La localización y severidad están estrechamente asociadas al grado de inmunodeficiencia celular, según se constata mediante el conteo de linfocitos CD₄ en sangre periférica.

La candidiasis orofaríngea es el prototipo de la infección por *Candida* en los pacientes infectados por el VIH. Se manifiesta cuando el conteo de linfocitos CD₄ es de aproximadamente 200 células/mm³ y su incidencia varía de un 62 % en pacientes seropositivos al VIH (previamente asintomáticos), hasta un 95 % en pacientes con SIDA.

Se han descrito tres formas clínicas principales de presentación de la candidiasis oral en esta población: la eritematosa, la pseudomembranosa y la queilitis angular o boquera. La forma eritematosa es la más frecuente (50 a 75 %), precede generalmente a la pseudomembranosa y se presenta como lesiones eritematosas, localizadas de preferencia en el paladar y dorso de la lengua. Esta última comienza como placas blanquecinas, semiadherentes, que al confluir dan lugar a una pseudomembrana de color blanquecino-cremoso a grisáceo y puede localizarse en el dorso de la lengua, las encías y mucosa oral de forma conjunta o aislada; si se desprende, deja una superficie eritematosa, exudativa y sangrante. El perleche o boquera afecta la comisura labial y adopta una disposición triangular que se extiende hacia las mejillas con un borde eritematoescamoso en la parte cutánea y una fisura en la zona semimucosa del pliegue.

La esofagitis por *Candida* es una de las enfermedades que definen un infectado por VIH como caso SIDA; ocurre cuando el conteo de CD₄ es menor que 100 células/mm³, su incidencia es del 15 % y está frecuentemente precedida de un cuadro de candidiasis oral severa. Aunque puede ser asintomática, la mayoría de los casos refieren disfagia, odinofagia y dolor retroesternal acompañados de pérdida de peso y astenia generalizada. Cuando no se establece un tratamiento preventivo, recurre en más del 90 % de los casos en pocos meses.

Estudios tempranos en el curso de la epidemia del SIDA, sugirieron que la candidiasis vaginal era más frecuente y tenía mayor tendencia a la recurrencia en mujeres VIH positivas; esto no ha podido ser demostrado en estudios bien controlados.

Entre las especies de *Candida*, *C. albicans* posee la mayor capacidad patógena, lo cual explica que sea esta la que se aísla con mayor frecuencia como agente etiológico en las candidiasis mucocutáneas. Sin embargo, en los últimos años, la presión antifúngica empleada en el tratamiento de los episodios de candidiasis oral, ha inducido una selección de las especies implicadas etiológicamente. Esto ha favorecido que otras especies (*C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*), inherentemente más resistentes a los azoles, se reporten en número creciente como agentes etiológicos de cuadros de candidiasis mucocutánea en el curso del SIDA. También han aparecido cepas de *C. albicans* menos susceptibles a los antifúngicos empleados y aislamientos atípicos que luego se demostró, pertenecían a una nueva especie denominada *Candida dubliniensis*.

Inicialmente, las pautas de tratamiento antifúngico en estos pacientes son similares a las empleadas en los pacientes VIH negativos, con la particularidad de que se observan casos crónicos, junto a una alta tasa de reinfecciones y un elevado número de recurrencias. Se ha comprobado que la erradicación del hongo no es permanente y que aparece una nueva colonización, casi siempre por la misma cepa, en más del 50 % de los casos a las 2 semanas de finalizar el tratamiento, lo que en muchos de ellos conduce a la recidiva.

La profilaxis de la candidiasis mucocutánea es muy controvertida. La prevención primaria de las formas orofaríngea o esofágica es efectiva, pero no se recomienda debido a: la baja tasa de mortalidad por estas patologías, baja incidencia de enfermedad diseminada, riesgo de selección de cepas resistentes, elevado costo y a la disponibilidad de tratamientos rápidos y efectivos para los cuadros agudos. La profilaxis secundaria para prevenir la recurrencia de cuadros de candidiasis orofaríngea y vulvovaginal, no es recomendada por la mayoría de los expertos por las razones expuestas. Sin embargo, en los casos de esofagitis bien documentada si estas recurrencias son frecuentes o severas, deben establecerse esquemas de tratamiento profilácticos intermitentes o por largos períodos, con nistatina tópica, o la administración de compuestos azólicos (ketoconazol, fluconazol e itraconazol).

CRIPTOCOCOSIS

En los últimos años, la criptococosis a nivel mundial ha sufrido un dramático incremento como reflejo del número de pacientes inmunocomprometidos, especialmente los afectados por el VIH. Se ha estimado una incidencia del 5 al 10 % que puede sobrepasar el 30 % en algunas regiones como África. Esto ha hecho que sea reconocida como una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en este tipo de pacientes. Los reportes de esta enfermedad en nuestro país son de 7,2 %, ubicándola después de la pneumocistosis y la candidiasis como la tercera entre las infecciones de origen fúngico en el curso del SIDA.

Hasta 1982 todos los casos de criptococosis asociados al SIDA eran debidos a *C. neoformans*, sobre todo a expensas del serotipo A, siendo la var. *gattii* aislada casi exclusivamente en inmunocompetentes. Sin embargo, de esa fecha hasta el momento han sido descritos al menos nueve casos a causa de esta variedad, y sólo existen escasos reportes de criptococosis por otras especies de este género (*C. albidus* y *C. laurentii*) en pacientes inmunodeprimidos. Cuba, a pesar de ser un país tropical donde se han introducido diferentes especies de *Eucalyptus*, los estudios realizados han demostrado un franco predominio de la var. *neoformans* serotipo A tanto en muestras clínicas como ambientales.

En general, los síntomas y signos de esta enfermedad son similares a los descritos en los pacientes VIH negativos. No obstante, se han podido encontrar algunas diferencias en cuanto a la frecuencia de aparición de los mismos en uno y otro grupos. Por ejemplo, la evolución del cuadro suele ser más aguda y fulminante en los pacientes con SIDA, en los cuales la fotofobia y el meningismo se reportan en menor cuantía, quizá como reflejo de una menor respuesta inflamatoria. La mayor frecuencia de infecciones en sitios extraneurales (pulmón, hueso, tracto genitourinario incluyendo la próstata, etc.), pudieran ser de utilidad para el diagnóstico en estos pacientes; existe una mayor tendencia a las recidivas y los casos que logran sobrevivir el episodio inicial, son más propensos a desarrollar otras infecciones oportunistas o neoplasias.

En la era pre-SIDA eran considerados como elementos de mal pronóstico la inmunodepresión persistente y determinadas alteraciones del LCR como presión elevada, niveles bajos de glucosa, títulos de antígenos superiores a 1:32, conteo de leucocitos por debajo de 20 células/mm³ y tinta china positiva en el momento del diagnóstico. En los pacientes con SIDA se considera, además, índice de mal pronóstico, las alteraciones del estado mental.

En los individuos donde se asocian infección viral por VIH y criptococosis, el examen del LCR con tinta china resulta positivo en más del 75 % de los casos, mientras que el resto de los parámetros tanto citoquímicos como citológicos pueden hallarse normales o alterados con tendencia a presentar conteos bajos de leucocitos (< 20 células/mm³) y títulos de antígenos más elevados, reportándose cifras de hasta 1:1 000 000.

La inmunidad celular es crucial en la defensa del hospedero contra esta micosis, siendo el principal factor predisponente en el desarrollo de la meningitis por *C. neoformans* la disminución del conteo de linfocitos CD₄. El mecanismo específico involucrado y cómo este es afectado por el SIDA, aún no están totalmente dilucidados. No obstante, se ha podido demostrar mediante estudios *in vitro* que esta levadura puede inducir la replicación viral en infecciones latentes de los monocitos por el VIH, lo cual pudiera empeorar la inmunidad del hospedero y acelerar el curso del SIDA. Por otra parte, se ha demostrado que el virus posee múltiples efectos en la respuesta inmune del hospedero, provocando alteraciones en la producción de citoquinas e interfiriendo con la actividad de los monocitos contra *C. neoformans*.

El tratamiento establecido en la era pre-SIDA no cumplió su cometido en estos pacientes, por lo que fue necesario evaluar gran número de esquemas terapéuticos. Uno de los más aceptados ha sido la combinación de anfotericina B (0,7 mg/kg/d) y 5-fluorocitosina (100 mg/kg/d) durante 2 semanas, seguido de fluconazol (200 a 400 mg/d) por 8 semanas. Otro de los esquemas sugiere la utilización de fluconazol asociado a 5-fluorocitosina como terapia de ataque y más recientemente se ha empleado con resultados alentadores anfotericina B (> 0,3 mg) combinada con 5-fluorocitosina (150 mg/kg/d) y fluconazol (200 a 400 mg/d). Estudios realizados *in vitro* sugieren un mayor efecto inhibitorio de anfotericina B cuando se asocia a estas drogas y una rápida disminución de los títulos de antígeno y esterilización del LCR en 1 a 2 semanas.

Con vista a reducir los riesgos de infección se ha recomendado evitar la exposición a sitios con una alta contaminación de *C. neoformans* como pudieran ser los palomares y la quimioprofilaxis con fluconazol en adolescentes y adultos con conteos de $CD_4 < 50$ células/mm³. No obstante, esta no debe ser administrada rutinariamente debido a la posibilidad potencial del desarrollo de resistencia, a las interacciones medicamentosas con otras drogas, ya que los pacientes con SIDA usualmente son politratados, y el costo de la misma. Sin embargo, los pacientes VIH con criptococosis, una vez completada la terapia inicial, deben recibir de por vida un tratamiento con fluconazol para evitar las recidivas. En el caso de mujeres embarazadas hay que evitar las dosis elevadas, pues en estudios experimentales se ha asociado a muerte fetal y malformaciones congénitas.

Los avances en el estudio de esta importante entidad, han permitido iniciar trabajos en el campo de la inmunoterapia como una vía para mejorar la calidad de vida de los pacientes afectados por el SIDA. Hasta el momento se trabaja en la obtención de inmunógenos y de anticuerpos monoclonales específicos útiles en la inmunización pasiva o como adyuvantes en el tratamiento antifúngico.

HISTOPLASMOSIS

Desde los inicios de la epidemia del SIDA, la histoplasmosis fue reconocida como una importante infección oportunista en pacientes seropositivos al VIH que residen en áreas endémicas. En 1982, se realiza el primer reporte de histoplasmosis y desde 1987 se reconoce la forma diseminada como una de las infecciones que definen al paciente con VIH como caso SIDA.

La incidencia de la enfermedad varía en dependencia de la endemidad en una u otra región. En algunas zonas endémicas de Estados Unidos, América Central, América del Sur, el Caribe y África, la enfermedad ocurre entre el 4 y el 5 %; mientras que en Indianápolis se reporta hasta en un 25 % de los casos infectados por el VIH. En nuestro país es de aproximadamente un 4 %.

Cientos de casos de histoplasmosis han sido reportados en el curso del SIDA. En la mayoría de ellos la enfermedad adopta la forma diseminada progresiva (HDP) fulminante que involucra al sistema reticuloendotelial.

Los pacientes con histoplasmosis diseminada presentan un cuadro clínico poco específico caracterizado por fiebre, pérdida de peso y malestar general. La hepatoesplenomegalia, las linfadenopatías generalizadas y lesiones cutáneas y mucosas (principalmente ulceraciones orofaríngeas), son manifestaciones frecuentes.

Las radiografías de tórax muestran alteraciones en más de la mitad de los casos, pero estas son inespecíficas, con predominio de infiltrados difusos bilaterales similares a los que se observan en las neumonías por *Pneumocystis carinii*. El compromiso de la médula ósea explica la anemia, la trombocitopenia y la leucopenia que suele acompañar el cuadro clínico. Manifestaciones menos frecuentes incluyen meningitis, fallo renal, hemorragias digestivas y cuagulopatías.

Un estudio de 12 pacientes con HDP confirmada histopatológicamente en el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", mostró la fiebre (100 %) y la hepatomegalia (91 %) como los hallazgos más frecuentes. El *rash* cutáneo, formado por vesículas y pústulas de color violáceo que ocasionalmente se ulceraba y abarcaba extensas zonas de la superficie corporal, se reportó en una proporción casi cinco veces superior a la reportada en la literatura. Los infiltrados difusos (50 %) en las radiografías de tórax y la anemia (92 %) fueron también hallazgos usuales en este estudio.

El diagnóstico y tratamiento de la histoplasmosis diseminada progresiva son difíciles y se revisan ampliamente en el capítulo correspondiente a esta enfermedad. En los pacientes con SIDA la recidiva es muy frecuente una vez que concluye la terapia inicial, por lo que se hace necesario imponer tratamiento de por vida. El itraconazol o la administración intermitente de anfotericina B han demostrado su eficacia en prevenir las recaídas. El fluconazol es menos efectivo, pero es una alternativa en pacientes que no toleran el itraconazol.

La HDP en el curso de la infección por el VIH es resultado de una infección aguda o de la reactivación de una infección latente. Se han encontrado evidencias que apoyan ambos mecanismos, pero se desconoce la proporción de casos que resultan de cada uno de ellos.

Establecer dicha proporción en áreas endémicas, e identificar los factores de riesgo asociados al desarrollo de la misma en estos grupos, es imprescindible para el diseño de adecuadas estrategias de prevención.

COCCIDIOIDOMICOSIS

Aproximadamente 5 años después de la epidemia del SIDA, comenzaron a aparecer reportes en la literatura médica de casos severos diseminados de coccidioidomicosis entre los pacientes infectados con el VIH. Aunque los primeros que fueron reconocidos procedían de áreas no endémicas, la gran mayoría de los casos diagnosticados posteriormente han sido reportados entre los pacientes VIH positivos que viven en el sudeste de EUA. Los estudios realizados sugieren que aproximadamente un 25 % de los pacientes con SIDA de esta región, presentan infección concomitante con *Coccidioides immitis*. La mortalidad en estos pacientes puede llegar al 33 %, la cual duplica la de los pacientes VIH positivos sin coccidioidomicosis (15 %) y quintuplica la de los pacientes VIH negativos con esta micosis (7 %).

El principal factor de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad es la inmunodepresión manifestada por un conteo bajo de linfocitos T CD₄.

Por lo general, los pacientes con coccidioidomicosis presentan en la radiología de tórax infiltrado reticular difuso similar al encontrado en la pneumocistosis. Aproximadamente el 70 % de los que muestran este patrón radiológico, mueren en el transcurso de 1 mes a pesar de la terapia antifúngica.

En los portadores del VIH, la diseminación a piel, tejidos blandos, huesos, articulaciones y meninges aparece con menor frecuencia que en los pacientes VIH negativos.

Las pruebas serológicas pueden resultar útiles para el diagnóstico, aunque los resultados falsos negativos aparecen más a menudo que en los seronegativos al VIH.

Las personas que viven o visitan áreas endémicas no pueden eludir totalmente la exposición a *C. immitis*, no obstante, ha sido recomendado evitar las actividades que pudieran incrementar el riesgo de padecer esta enfermedad como las excavaciones y la labranza o ciertas condiciones como las tormentas de polvo. Al igual que en la criptococosis y la histoplasmosis, se recomienda la terapia de mantenimiento con compuestos azólicos orales, aunque han sido descritos casos de recaídas a pesar de esta.

ASPERGILOSIS

La aspergilosis diseminada fue considerada originalmente como una infección marcadora de SIDA, pero en 1984 dejó de integrar esta lista, pues sólo se habían diagnosticado tres casos. Sin embargo, en los últimos años se ha producido un dramático incremento en los reportes de aspergilosis invasiva en el curso del SIDA.

La incidencia de esta enfermedad en pacientes VIH positivos no es bien conocida. Los datos disponibles varían de 1,9 a 8,6 % en estudios retrospectivos *pre-mortem* y de 0 a 12 % en series de autopsias. La prevalencia global se ha estimado en un 4 %.

En la mayoría de los casos, se presenta asociada a otras enfermedades oportunistas, en pacientes con avanzado estado de infección viral y con conteos de linfocitos CD₄ inferiores a 100 células/mm³. En muchos de los pacientes se constatan factores de riesgo tradicionales para aspergilosis invasiva como son neutropenia y tratamiento con esteroides al momento del diagnóstico.

Aspergillus fumigatus es el agente etiológico en más del 80 % de los casos; también han sido reportados *A. flavus*, *A. niger* y *A. terreus*.

La forma clínica de presentación más común es la aspergilosis invasiva pulmonar con fiebre, tos, disnea, dolor torácico y hemoptisis. La radiografía de tórax muestra alteraciones variadas que van desde infiltrado localizado o difuso a lesiones cavitarias. Otros órganos involucrados con menor frecuencia incluyen cerebro, páncreas y corazón. Su diagnóstico es en extremo difícil. En cinco series de necropsias que involucraron 900 pacientes, de 41 sólo 9 (21 %) fueron diagnosticados *pre-mortem*.

La forma clínica obstructiva bronquial se ha descrito en un menor número de casos y se caracteriza por alteraciones radiológicas variables y abundante expectoración mucoide que contiene *Aspergillus*.

En todas las series de casos descritos, la tasa de mortalidad es muy elevada a pesar del tratamiento. La anfotericina B ha sido la droga más utilizada, pero la respuesta al tratamiento es pobre. El itraconazol ha sido empleado en un número reducido de pacientes, y se ha obtenido una respuesta de corta duración.

PENICILIOSIS

Es una micosis sistémica, que ocupa el tercer lugar entre las infecciones oportunistas en el sudeste asiático después de la tuberculosis y la criptococosis.

Hasta el momento, el principal agente etiológico de esta entidad en pacientes con SIDA es el hongo dimórfico *Penicillium marneffei*, el cual es aislado por primera vez en 1956 a partir de los órganos internos de una rata de bambú (*Rhizomys marneffei*) en Viet Nam, pero no fue hasta 1973 que se reconoce como agente patógeno oportunista.

El primer reporte en un paciente con SIDA se realizó en 1988. A partir de entonces, un número creciente de casos hasta sobrepasar los 100 han aparecido en la literatura médica.

Aunque la distribución geográfica del microorganismo no ha sido bien definida, los casos publicados sugieren que existen focos endémicos en la región de Chian Mai, donde más del 20 % de los pacientes VIH positivos desarrollan infecciones sistémicas por *P. marneffei*.

Debido a que las manifestaciones clínicas de esta enfermedad son comunes a las de las infecciones fúngicas del sistema reticuloendotelial, frecuentemente el cuadro es confundido con el de histoplasmosis.

Las manifestaciones clínicas de la peniciliosis en el curso del SIDA son muy similares a las desarrolladas por los pacientes inmunocompetentes, pero suelen ser más intensas y con una evolución más aguda. Cerca del 80 % de los pacientes presentan manifestaciones cutáneas (pápulas umbilicadas que recuerdan el *Moluscum contagiosum*), la fiebre aparece en el 95 % y también se reporta con frecuencia pérdida de peso (76 %), anemia (77 %) y candidiasis concomitante.

No existen datos disponibles sobre la patogénesis de la infección en el humano. No obstante, ha sido descrito un estado de infección asintomático previo a la inmunosupresión seguido de reactivación de la infección fúngica, así como el desarrollo de infección clínicamente activa 4 a 5 semanas después de la exposición a un área endémica, sugiriendo que el cuadro clínico puede aparecer poco tiempo después de la infección primaria.

El diagnóstico clínico de la enfermedad debe realizarse mediante examen microscópico directo de aspirado de médula ósea y(o) frotis a partir de muestras de lesiones de piel obtenidas por biopsia teñida con coloración de Wright. El cultivo puede efectuarse a partir de estas mismas muestras y de sangre en medio de Sabouraud con cloranfenicol durante 48 a 72 horas. Bajo estas condiciones, *P. marneffei* crece rápidamente como un hongo filamentoso de aspecto granuloso, al inicio de aspecto blanquecino y luego verde-amarillento o verde oscuro, que produce un pigmento rojo difusible. Microscópicamente se observan filídes ramificadas con aspecto de brocha o pincel. La identificación de este agente puede ser completada por la observación de formas levaduriformes después de sembrada la colonia en medio agarizado de cerebro-corazón.

Las pruebas de susceptibilidad *in vitro* realizadas sugieren que *P. marneffei* es altamente sensible al miconazol, itraconazol, ketoconazol y 5-fluorocitosina; mientras que la anfotericina B muestra una actividad antifúngica intermedia y el fluconazol es el agente menos activo. Estudios de correlación clínico-microbiológica sugieren que el itraconazol (200 a 400 mg/d) y el ketoconazol, deben ser considerados como las drogas de elección en el tratamiento de las infecciones moderadas, en tanto la anfotericina B (1 mg/kg/d) debe ser reservada para casos más severos.

MICOSIS OPORTUNISTAS MENOS FRECUENTES

Un gran número de infecciones oportunistas por hongos poco frecuentes y por patógenos emergentes, han sido descritas en pacientes con SIDA. Las más comunes entre estas incluyen la blastomicosis y la mucormicosis.

Blastomicosis. Sólo se ha reportado en aproximadamente 25 personas seropositivas al VIH, siendo hasta el momento una enfermedad poco frecuente en inmunodeprimidos. La mayor serie de casos publicados comprende 15 pacientes, de los cuales, sólo 1 tenía un conteo de CD₄ mayor que 200 células/mm³ y 12 padecieron otras enfermedades oportunistas, lo cual sugiere que la blastomicosis se presenta tardíamente en el curso del SIDA. Todos los pacientes descritos en la literatura residían o habían vivido en áreas endémicas. Se han identificado dos patrones clínicos para la enfermedad, la blastomicosis pulmonar localizada y la diseminada con participación del SNC. Los porcentajes de mortalidad asociados a esta última, triplican lo reportado para la forma pulmonar localizada.

Mucormicosis. Generalmente se presenta como una micosis oportunista en pacientes debilitados. Se han reportado 16 casos asociados a SIDA y las especies involucradas como agentes etiológicos incluyen: *Rhizopus* sp., *Absidia corymbifera*, *Cunninghamella* y *Mucor* sp. La forma de presentación más frecuente ha sido la mucormicosis cerebral con una alta tasa de mortalidad. En Cuba sólo se ha reportado un caso de presentación pulmonar, la cual fue diagnosticada en un niño.

Otras micosis raras descritas comprenden fungemia y neumonía por *Sacharomyces cerevisiae*; osteomielitis por *Candida glabrata*; fungemias por *Rhodotorula* y *Trichosporon*; endocarditis y neumonía por *Fusarium*; infecciones cutáneas debidas a *Alternaria alternata*, *Emmonsia pasteuriana*, *Curvularia* sp. y *Bipolaris* sp.

RESUMEN

La introducción del tratamiento antirretroviral altamente activo, ha ido modificando sustancialmente la historia natural de la infección por el VIH y ha inducido cambios en el curso y pronóstico de la enfermedad al disminuir, hasta en un 50 %, el riesgo de contraer algunas de las enfermedades oportunistas. Sin embargo, más del 90 % de las personas infectadas con este virus en todo el mundo, viven en sociedades sin recursos financieros para pagar el precio actual de esos tratamientos; y otros pacientes, de naciones desarrolladas, carecen de acceso debido a la falta, o a las limitaciones, de un seguro médico. En el presente capítulo se han discutido las principales micosis oportunistas que afectan a los pacientes con SIDA, lo cual, aún hoy, continúa siendo un grave problema para la salud de estas personas. Es imprescindible que microbiólogos, oncólogos, hematólogos, infectólogos, intensivistas, etc., se adentren en el estudio de estas patologías para elevar el índice de sospecha clínica y que los laboratorios amplíen sus capacidades diagnósticas, las cuales le permitan brindar respuestas rápidas y confiables, como única vía de establecer tratamientos oportunos que mejoren la calidad de vida de los pacientes que sufren estas enfermedades.

BIBLIOGRAFÍA

- Arteaga E, Capó V, Pérez ML. Micosis oportunistas. Un estudio de 211 autopsias. Rev Iberoam Micol 1998;15(1):33-5.
- Barry S. Treatment of mucosal candidiasis in HIV-infected patients. J Med Mycol 1996;6(suppl. II):3-11.
- Bradsher RW. Histoplasmosis and blastomicosis. Clin Infec Dis 1996;22(suppl. 2):s112-s119.
- Castañón-Olivares LR, López-Martínez R, Barriga-Angulo G, Ríos-Rosas C. *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* in AIDS patients: first observation in México. Med Mycol 1998;35(5):335-9.
- Ceballos A, Gaitán LA, Ruesga MT et al. Prevalencia de lesiones orales por *Candida* sp. y sus variedades y serotipos en una población con SIDA sometida a terapia antirretroviral altamente activa. Rev Iberoam Micol 1998;15(3):141-5.
- Coleman DC, Sullivan DJ, Bennett DE, Moran GP et al. Candidiasis: the emergence of a novel species, *Candida dubliniensis*. AIDS 1997;11(5):557-67.
- Cunliffe NA, Denning DW. Uncommon invasive mycoses in AIDS. AIDS 1995;9(5):411-20.
- Dewsnup DH, Stevens DA. Efficacy of oral amphotericin B in AIDS patients with clinical resistant to fluconazole. J Med Vet Mycol 1994;32(5):389-94.
- Dupont B, Denning DW, Marriot D, Sugar A et al. Mycoses in AIDS patients. J Med Vet Mycol 1994; 32(suppl. 1):s65-s77.
- Dupont B, Graybill JR, Armstrong D, Laroche R et al. Fungal in AIDS patients. J Med Vet Mycol 1992;30(suppl. 1):s19-s28.
- Eloy O, Lemayre P, Roubache JF, Pina P et al. Acquisition de la résistance aux azolés de *Candida albicans* au cours de candidoses oropharyngées chez le sujet VIH positif. Intér du typage moleculaire. J Med Mycol 1998;8 (2):78-86.

- Fernández C, Conse C, Martínez G, Ruiz A. Histoplasmosis diseminada progresiva en pacientes con SIDA. Rev Cub Med Trop 1996;48(3):163-266.
- Flores Z, Martínez G, Ruiz A, Fernández CM et al. Candidiasis esofágica en pacientes con SIDA. Estudio clínico-microbiológico. Rev Cub Med Trop 1998;2(50):110-5.
- González I, Dorsal I, Díaz J et al. Infección por mucormicosis pulmonar en un niño con SIDA. Rev Cub Med Trop 1997;3(49):218-21.
- Horn CA, Washbur RG, Givner LB et al. Azole-resistan oropharyngeal and esophageal candidiasis in patients with AIDS. AIDS 1995;9(5):533-4.
- Kappe R, Levtz S, Harrison TS, Rhunke M et al. Recent advances in cryptococcosis, candidiasis and coccidioidomycosis complicating HIV infection. Med Mycol 1998;36(suppl. 1):s207-s215.
- Kordossis T, Avlami A, Stefanou I, Georgakopoulos G et al. First report of *Cryptococcus laurentii* meningitis and fatal case of *Cryptococcus albidus* cryptococcaemia in AIDS patients. Med Mycol 1998; 36(5):335-9.
- Martínez G, Perurena M, Núñez J et al. Aislamiento, identificación y tipificación de levaduras en pacientes VIH positivos con candidiasis oral. Rev Cub Med Trop 1997;3(49):181-7.
- McNeil MM, Neil MA. Opportunistic Coccidioidomycosis in patients infected with Human Immunodeficiency Virus: Prevention issues and priorities. Clin Infect Dis 1995;21(suppl 1):s111-s114.
- Neil M, Ampel MD. Emerging disease issues and fungal pathogens associated with HIV infection. Emer Infect Dis 1996;2(April-June):109-16.
- Patterson TF. Cryptococcosis in HIV and non-HIV infected host. Int J Infect Dis 1997;1(suppl. 1):s64-s69.
- Pérez J, Torres R, Joanes J, Terry H. HIV infection in Cuba AIDS HIV Infekt 1993;8:1-9.
- Pinner RW, Hajjeh RA, Powderly G. Prospects for preventing Cryptococcosis in persons infected with Human Immunodeficiency Virus. Clin Infect Dis 1995;21(suppl.1):s103-s7.
- Powderly WG. Recent advances in the management of cryptococcal meningitis in patients with AIDS. Clin Infect Dis, 1996;22(suppl 2):s119-s123.
- Rodero L, Bouturemia M, Vivot W, Canteros C et al. Oropharyngeal candidiasis in HIV infected patients; antifungal resistance profile. Rev Iberoam Micol, 1996;13(3):64-7.
- Rodríguez Barrera ME, CApó de Paz V, Fernández Andreu CM, Martínez Machín G et al. Histoplasmosis cutánea diseminada como forma de presentación del SIDA. Actas Drem Sif, 1992;83(6):332-4.
- Romo J, Salido F (eds). SIDA, manejo del paciente con VIH. México DF: Ed. El manual Moderno, SA. De CV, 1997.
- Simonds RJ, Walter T, Feingerg J, Navin TR. Preventing *Pneumocystis carinii* pneumonia in persons infected with Human Immunodeficiency Virus. Clin Infect Dis, 1995;21(suppl 1):s44-s48.
- Wheat LJ, Kohler RB, Tewari RP. Diagnosis of disseminated histoplasmosis by detection of *Histoplasma capsulatum* antigen in serum and urine specimens. New England J Med, 1986;314(9):83-8.
- White MH. Is vulvovaginal candidiasis an AIDS-related illness. Clin Infect Dis, 1996;22(suppl 2):s124-s127.
- Worser GP (ed). AIDS and others manifestations of HIV infection. Raven Press, 1992.