

Procedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades
Infecciosas y Microbiología Clínica

Editor: **Juan J. Picazo**

7. Gastroenteritis bacterianas
víricas, parasitarias y
toxi-infecciones
alimentarias

1 9 9 4

Coordinador: **Manuel López Brea**

Juan Carlos Sanz
Miguel Angel Usera
Jordi Reina
Laura Cardeñoso
Francisco Vasallo

INDICE

I. Introducción

II. Infecciones gastrointestinales de etiología bacteriana y toxi-infecciones alimentarias

- Salmonella sp.
- Shigella sp.
- Escherichia coli.
- Campylobacter sp.
- Helicobacter pylori.
- Aeromonas sp.
- Plesiomonas sp.
- Vibrio sp.
- Yersinia sp.
- Clostridium difficile.
- Clostridium perfringens.
- Bacillus cereus.
- Staphylococcus aureus.

III. Virus productores de gastroenteritis

- Rotavirus
- Adenovirus
- Norwalk y virus semejantes a Norwalk ("Norwalk-like")
- Calicivirus
- Astrovirus
- Virus pequeños sin rasgos distintivos

IV. Infecciones gastrointestinales de etiología parasitaria

- Amebiasis
- Flagelados intestinales
- Coccidiosis
- Helmintos

V. Pautas de actuación

- Orientación diagnóstica ante una sospecha de toxi-infección alimentaria
- Indicación de estudio de virus
- Indicación de estudio parasitológico
- Diarrea del viajero
- Gastroenteritis en el paciente inmunodeprimido

VI. Bibliografía

VII. Tablas

7. GASTROENTERÍTIS BACTERIANAS, VÍRICAS, PARASITÁRIAS Y TOXI-INFECCIONES ALIMENTARIAS 1994

I. INTRODUCCION

La alta incidencia de los procesos infecciosos entéricos en la población general junto con sus elevados índices de morbi-mortalidad entre determinados grupos etarios (niños y ancianos) hacen que este tipo de patología constituya un motivo de especial interés tanto desde el punto de vista clínico como microbiológico.

El número de microorganismos implicados en cuadros entéricos se ha ampliado durante los últimos años debido, entre otros factores, al mejor conocimiento de la clasificación taxonómica de los diferentes agentes etiológicos y al desarrollo de métodos diagnósticos cada vez más sensibles. La aparición de agentes infecciosos antaño raros o casi desconocidos en nuestro entorno se ha visto favorecida por la mayor frecuencia de viajes intercontinentales y el aumento de los movimientos migracionales. Finalmente, el incremento del número de pacientes inmunocomprometidos (SIDA y tratamientos inmunosupresores) ha supuesto un elemento de capital importancia en relación con este grupo de enfermedades infecciosas.

Ante la sospecha de un cuadro de infección gastrointestinal debe hacerse una detallada historia clínica y un correcto estudio microbiológico. Los antecedentes epidemiológicos (edad, historia reciente de viajes, aparición esporádica o como parte de un brote, tipo de alimento sospechoso, período de incubación), la existencia de factores predisponentes (inmunosupresión), la presencia de signos y síntomas clínicos (fiebre, dolor abdominal, manifestación de náuseas y vómitos) y el tipo de diarrea (acuosa, mucosa o sanguinolenta) pueden orientar acerca del microorganismo implicado. No obstante, el diagnóstico definitivo clínicamente se puede obtener mediante pruebas de laboratorio.

La toma de las muestras fecales y su transporte al laboratorio de microbiología se ha comentado en el número 1 de los Procedimientos en Microbiología Clínica. En este número se aborda una aproximación al conocimiento de diferentes agentes bacterianos, víricos y parasitarios implicados en procesos diarreicos y se proponen un conjunto de recomendaciones para un correcto diagnóstico de las infecciones gastrointestinales.

II. INFECCIONES GASTROINTESTINALES BACTERIANAS Y TOXI-INFECCIONES ALIMENTARIAS.

SALMONELLA

Generalidades

Las salmonellas son bacilos gram negativos, oxidasa negativos, anaerobios facultativos, ampliamente distribuidos en diferentes ambientes. Producen principalmente cuadros gastrointestinales, fundamentalmente asociados a intoxicaciones alimentarias con una alta incidencia en los países desarrollados. También gérmenes pertenecientes a la misma especie son los causantes de las fiebres tifoideas y paratifoideas (*Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi A, B y C*).

En España, durante el período 1990-1992, el 84% de las toxi-infecciones alimentarias fueron debidas a alguno de los serotipos de *Salmonella sp* de la subespecie I. La incidencia de la fiebre tifoidea ha disminuido de una forma considerable en los últimos años, hasta una tasa por 100.000 habitantes de 1,8 en 1993.

La dosis infectante de las salmonellas oscila entre 10^5 y 10^9 ufc/ml, aunque se han descrito casos de infecciones por concentraciones de 10^2 . Las salmonellas son consideradas bacterias invasivas, pero solamente superan las barreras mucosa y linfática, invadiendo el torrente sanguíneo, las productoras de fiebre tifoidea y excepcionalmente algún otro serotipo.

Diagnóstico microbiológico

Las salmonellas productoras de gastroenteritis se aíslan de las heces mediante coprocultivo. El análisis microscópico de las heces en el caso de la salmonelosis no suele ser de utilidad, porque aunque pueden aparecer heces sanguinolentas y existir leucocitos, estos también se presentan en otras diarreas invasivas.

El coprocultivo debe realizarse a partir de heces recién tomadas o en su defecto mantenidas refrigeradas en medio de transporte (Cary-Blair).

La utilización de un medio líquido de enriquecimiento (caldo de F-selenito o caldo de tetracionato) es fundamental cuando se trata de estudiar portadores asintomáticos, ya que en estos casos suele eliminarse sólo una baja concentración de salmonellas en heces. Sin embargo, también es

recomendable utilizar medios de enriquecimiento en cuadros de gastroenteritis agudas con objeto de inhibir la flora fecal competitiva, aunque el elevado número de salmonellas presente en las heces en estos casos no los hace indispensables.

El coprocultivo se realiza mediante la preparación de una emulsión de uno o dos gramos de heces en solución salina fisiológica, a partir de la cuál se inocula un tubo de un medio líquido de enriquecimiento y tres medios sólidos distintos: un medio general (agar sangre o agar de soja y triptona), un medio poco selectivo (agar MacConkey o agar de eosina azul de metileno) y un medio de selectividad media (agar Hecktoen o agar salmonella-shigella). En los casos poco frecuentes en los que se considere necesario buscar una cepa de *Salmonella* sp. fermentadora de inetosa es útil añadir un cuarto medio más selectivo como agar sulfito o agar MacConkey con verde brillante (estos medios inhiben el crecimiento de coliformes).

En casos de sospecha de fiebre tifoidea lo habitual es aislar el germen de sangre, pero también se puede aislar a partir de heces si se toma la muestra antes del inicio del tratamiento con antibióticos. Para aislar *S. typhi* es conveniente incluir el medio de agar sulfito-bismuto. La reacción de Widal (estudio de anticuerpos séricos frente a antígenos O-H y V_i de *Salmonella typhi*) presenta una escasa utilidad.

Todos los medios se incuban en aerobiosis a 37° C. Los medios sólidos deben examinarse a las 24 y 48 horas y el caldo de enriquecimiento se resiembr a las 24 horas en los tres medios sólidos antes mencionados.

Uno de los principales objetivos en microbiología clínica es la identificación del agente causal por procedimientos cada vez más ágiles y seguros (mayor rapidez con especificidad y sensibilidad más altas).

La identificación del germen aislado en placa puede acelerarse usando diferentes técnicas: aglutinación (aglutinación de latex con anticuerpos específicos, coaglutinación etc), detección de umbeliferona, un producto fluorescente liberado por la enzima caprilario esterasa (C8 esterasa) producida por salmonella ("Mucap", Biolife, Milán, Italia), mediante pruebas enzimáticas rápidas o por sondas específicas de hibridación de ADN.

Se está trabajando en la elaboración de sondas específicas de hibridación con objeto de utilizarlas directamente para la detección de *Salmonella* sp. en muestras

clínicas. Uno de los inconvenientes de dichas sondas es que son necesarias elevadas concentraciones de la bacteria que normalmente no se dan en las heces. Para solucionar este problema se puede recurrir a la aplicación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), aunque tanto las condiciones químicas y físicas de las heces como la presencia de otras bacterias que pueden interferir en los resultados dificultan la puesta a punto de la técnica. La elaboración de una sonda basada en el fragmento de inserción IS200 específico de salmonela es prometedora.

Indicaciones de tratamiento antibiótico

Las salmonelosis cuando afectan a personas adultas y sanas se suelen resolver espontáneamente. En estas situaciones no se recomienda el tratamiento con antibióticos ya que, según algunos autores, puede prolongar el estado de portador convaleciente. Por lo tanto el tratamiento debería limitarse en casos no complicados a rehidratación, reposición de electrolitos y tratamiento sintomático del enfermo. En personas con alguna enfermedad de base, en niños muy pequeños, en ancianos o en aquellos casos poco frecuentes en que se produzca una infección generalizada los antibióticos de elección son las cefalosporinas y las quinolonas.

La fiebre tifoidea debe ser tratada con antibióticos desde el principio. En España, de acuerdo con los datos que se poseen de sensibilidad, los tres antibióticos tradicionales de elección: (cloranfenicol, ampicilina y cotrimoxazol) se pueden escoger para el tratamiento como primera opción. Solamente en aquellos casos que se sospeche la adquisición de la enfermedad en el continente Asiático o que no responda en los primeros días al tratamiento, se recomienda utilizar cefalosporinas de tercera generación o quinolonas.

SHIGELLA

Generalidades

El género *Shigella* se compone de varios serotipos agrupados de acuerdo con el anígeno O, en cuatro especies: *Shigella dysenteriae* (grupo A, 13 subtipos), *Shigella flexneri* (grupo B, 6 subtipos y 13 subfactores), *Shigella boydii* (grupo C, 18 subtipos), *Shigella sonnei* (grupo D, 1 subtipo con dos variantes, forma I lisa y forma II rugosa). Desde un punto de vista genético *E. coli* enteroinvasivo y *Shigella* sp.

pueden considerarse un mismo microorganismo.

La presentación clínica de la shigelosis a menudo comienza con una ligera diarrea acuosa que puede derivar en franca disentería, reflejando posiblemente la progresión de la infección desde el intestino delgado al colon. Este cuadro suele ser autolimitado, sin embargo puede cursar de forma más grave y complicada en niños y ancianos. Es frecuente la manifestación de fiebre, náuseas y vómitos, dolor abdominal, cefalea y mialgias. La forma clásica de disentería por *Shigella sp.* se caracteriza por la emisión de heces diarreicas que muestran la presencia franca de sangre con o sin moco.

Diagnóstico microbiológico

El cultivo microbiológico, las pruebas de identificación bioquímica estándar y las técnicas de serológicas de agrupamiento constituyen los métodos de detección rutinaria de *Shigella sp.* El diagnóstico de laboratorio debería incluir el examen microscópico de las heces mediante una tinción en fresco con azul de metileno de Loeffler. La detección microscópica de leucocitos en heces debe hacer sospechar una infección por *Shigella sp.* o por otra bacteria enteroinvasiva, sin embargo, el examen microscópico no puede considerarse un sustituto del coprocultivo.

Las muestras de heces deben ser procesadas para cultivo idealmente dentro de las 2 primeras horas tras su emisión. Si esto no es posible, es conveniente su conservación en un medio de transporte como el de Cary-Blair o alternativamente Stuart, Amies o glicerol salino tamponado. Las muestras conservadas en medio de transporte se mantienen en refrigerador hasta su siembra.

Entre los medios empleados para el cultivo rutinario de *Shigella sp.* se pueden incluir medios diferenciales de baja o moderada selectividad como agar MacConkey, medios diferenciales más selectivos como agar xilosa-lisina-deoxicolato, agar entérico de Hektoen o salmonella-shigella y medios líquidos de enriquecimiento como caldo de selenito y caldo GN. En agar de MacConkey las cepas de *Shigella sp.* aparecen típicamente como colonias lactosa negativas. Este medio permite el crecimiento de cepas que pueden ser inhibidas en otros medios entéricos más selectivos. El medio de xilosa-lisina-deoxicolato constituye un medio de selectividad intermedia, excelente para el

aislamiento y diferenciación presuntiva de estas bacterias. Las raras cepas de *Shigella* que fermentan xilosa pueden no ser detectadas en agar xilosa-lisina-deoxicolato y por ello este medio debe emplearse en combinación con agar de MacConkey.

Otros medios más selectivos como el agar de Hektoen o el agar salmonella-shigella permiten una adecuada tasa de aislamiento de estos microorganismos y deben ser utilizados en combinación con los anteriores. En ellos, las colonias de *Shigella* aparecen como lactosa negativas y sin evidencia de producción de H₂S. En aquellos casos en los que la realización de coprocultivos se demore respecto al inicio de los síntomas, puede ser conveniente utilizar un caldo de enriquecimiento como GN o selenito (este último medio es especialmente útil para la recuperación de *S. sonnei*).

Las colonias sospechosas en los medios diferenciales (lactosa y xilosa negativas, sin producción de H₂S) pueden ser sometidas antes de una identificación bioquímica completa, a un proceso de despistaje o identificación presuntiva mediante una batería de pruebas que puede incluir además de TSI o Kligler, los medios de lisina, citrato, urea y manitol-movilidad. Los aislamientos identificados presuntivamente como posibles *Shigella sp.* deben ser definitivamente adscritos a este género a partir de una identificación bioquímica completa.

La identificación definitiva a nivel de especie se realiza mediante aglutinación en porta con antiseros específicos de los grupos O (A,B,C y D). Cabe la posibilidad de encontrar aislamientos que bioquímicamente se identifican como *Shigella sp.* pero que no pueden ser aglutinados por los antiseros disponibles de los grupos A,B,C y D. Estas cepas deben ser sometidas a 100°C durante 15-30 minutos en un baño de agua y probadas nuevamente frente a los antiseros específicos. Si aún así no es posible lograr la aglutinación del aislamiento, la cepa debe ser informada como "*Shigella specie*".

Indicaciones de tratamiento antibiótico

La terapia antimicrobiana específica reduce la duración y severidad de la disentería y puede prevenir la aparición de complicaciones potencialmente severas. Durante los últimos años se ha detectado un incremento de resistencia anti-microbiana a ampicilina y cotrimoxazol.

Entre los agentes contemplados en la actualidad para el tratamiento de infecciones causadas por cepas de *Shigella* multirresistentes destacan quinolonas orales y cefalosporinas de tercera generación.

ESCHERICHIA COLI PRODUCTOR DE DIARREA

Generalidades

Clásicamente se han considerado cuatro grupos definidos de cepas de *Escherichia coli* (*E. coli*) implicadas en procesos diarreicos: *E. coli* enteropatógena (ECEP); cepas productoras de enterotoxinas termolábiles (TL) o termoestables (TE) denominadas *E. coli* enterotaxigénico (ECET); cepas que son capaces de invadir la mucosa intestinal de igual manera que *Shigella sp.* designadas *E. Coli* enteroinvasivo (ECEI) y finalmente cepas productoras de una toxina similar a la toxina Shiga ("Shiga-like toxin" a "SLT") que pueden originar un cuadro de colitis hemorrágica y que son conocidas como *E. coli* enterohemorrágico (ECEH).

Recientemente se ha intraducido un nuevo esquema funcional que ha complicado la clasificación de los grupos de *E. coli* causante de diarrea y que incluye cepas que no producen toxinas y que se han agrupado según su patrón de adherencia a células HEp-2: adherencia local a *E. coli* localmente adherente (ECLA) y adherencia difusa a *E. coli* difusamente adherente (ECDA).

Un nuevo grupo de *E. coli* patogénico esta constituido por aislamientos que muestran un patrón característico de adherencia a células HEp-2, diferente de los anteriores y denominada patrón de adherencia enteroagregativo a *E. coli* enteroagregativo (ECEAg). El 93% de las cepas de *E. coli* pertenecientes al grupo ECEAg albergan un plásmido de 55-65 Md cuya trasferencia confiere la expresión de este patrón de adherencia. Mediante estudios de hibridación de ADN y seroagrupamiento se ha demostrado que estas cepas ECEAg son diferentes de los grupos clásicos de *E. coli* productor de diarrea (ECEP, ECET, ECEI y ECEH).

Diagnóstico microbiológico

El diagnóstico microbiológico de los procesos diarreicos causados por *E. coli* resulta complicado debido a que esta especie es un componente abundante de la microflora normal del intestino humano. A diferencia de *Salmonella sp.* a *Shigella sp.*, las cepas de *E. coli* productoras de diarrea

pueden ser tanto fermentadoras como no fermentadoras de lactosa, haciendo complicada su detección mediante los medios entéricos diferenciales de uso convencional (que se basan en la utilización de este azúcar). Una vez aisladas, estas cepas pueden ser serotipadas mediante los antisueros específicos o sometidas a ensayos de virulencia.

Sin embargo, los procedimientos de aislamiento en heces y de identificación de estos tipos de *E. coli*, habitualmente quedan fuera de la práctica rutinaria de la mayoría de los laboratorios. El principal serotipo de *E. coli* enterohemorrágico, *E. coli* O157 H7, constituye una excepción a lo anteriormente expuesto. Estas cepas presentan la particularidad de no fermentar el D-sorbitol, lo que condujo a la modificación de ciertos medios entéricos, como el medio de MacConkey sorbitol agar, que incorporan este azúcar como agente diferencial y permiten la detección presuntiva de este serotipo tras 18 horas de incubación.

Actualmente se dispone de técnicas de aglutinación mediante partículas de latex que permiten una rápida detección de cepas de *E. coli* O157 H7 aisladas en MacConkey a MacCon-key sorbitol agar con una sensibilidad y especificidad que se ha referido como del 100%. A pesar de estos excelentes resultados, todas las bacterias positivas mediante esta técnica deben ser identificadas bioquímicamente como *E. coli* ya que otros microorganismos gram negativos no fermentadores de sorbitol como *Escherichia hermannii*, *Brucella abortus*, *Yersinia enterocolitica* serogrupo O9 y ciertos serotipos de *Salmonella* (N) pueden mostrar reacciones cruzadas con los anti sueros O157 específicos, debido a la existencia de componentes comunes entre sus respectivos lipopolisacáridos.

El empleo de medios de cultivo que combinan el uso de sorbitol y la inmovilización mediante la incorporación de antisuero H7 puede resultar muy selectivo para la detección de este serotipo. Los otros grupos de *E. coli* productores diarrea ECEP, ECET, ECEI y serotipos de ECEH diferentes a O157 H7 pueden ser sometidos a un procedimiento de despistaje o "screening" serológico mediante el muestreo de varias colonias lactosa positiva obtenidas de un medio entérico como Mac-Conkey. A causa de la posibilidad de cultivos mixtos o contaminados, se recomienda seleccionar un mínimo de 5 colonias fermentadoras de lactosa por placa. Su detección mediante antisueros polivalentes puede estar indicada

ante brotes colectivos o casos de diarrea severa o crónica.

En la actualidad se dispone de productos comercializados para el análisis de la toxina termolábil producida por ECET. Entre ellos destacan los tests de aglutinación pasiva inversa con partículas de latex que permiten la detección de la toxina termolábil a partir de caldos de cultivo. La producción de este tipo de enterotoxina puede potenciarse "in vitro" mediante la incorporación de polimixina B a los medios de cultivo.

Dada la baja incidencia estimada de infección por ECEI, la investigación rutinaria de estos serotipos puede no estar indicada. Estos aislamientos presentan en ocasiones reacciones cruzadas con los antisueros específicos para *Shigella* sp.. La confirmación de estos serotipos puede realizarse mediante el test de Sereny (queratoconjuntivitis en cobaya), test de invasividad en cultivos de células epiteliales, métodos ELISA o pruebas de ADN.

Los serotipos de ECEH diferentes a O157 H7 pueden ser investigados mediante antisueros específicos y sometidos a ensayos de citotoxicidad en líneas celulares Hela y Vero. La detección de ECLA y ECEAg se lleva a cabo mediante ensayos de adherencia a células HEp-2. Estos ensayos de citotoxicidad y adherencia suelen quedar fuera de la práctica habitual y se realizan en laboratorios de referencia.

En los últimos años se han venido desarrollando diferentes pruebas de ADN aplicables a la detección de los diferentes tipos y subtipos de *E. coli* implicados en cuadros de diarrea (ECET, ECEI, ECEH, ECEP-LA, EPEC-DA y EPEC-EA). El empleo de sondas de ADN conjugadas con biotina facilita su uso para la identificación de estos microorganismos. El método de amplificación de ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa ha aportado resultados alentadores para la detección de *E. coli* productor de diarrea, sin embargo su aplicación directa sobre muestras clínicas puede plantear problemas por la posibilidad de aparición de interferencias entre inhibidores presentes en heces con la polimerasa de *Thermus aquaticus*.

CAMPYLOBACTER

Generalidades

Se han descrito varias especies pertenecientes al género *Campylobacter*: *C. coli*, *C. concisus*, *C. fetus* spp. *fetus*, *C. hyointestinalis*, *C. lari*, *C. jejuni* spp. *jejuni*, *C. jejuni* spp. *doylei*, *C. rectus*, *C. sputigena*, *C. sputorum* spp. *sputorum* y *C. upsaliensis*.

Recientemente se ha sugerido una nueva especie ("*C. butzleri*") para incluir algunas cepas aerotolerantes de *Campylobacter*, sin embargo, este microorganismo parece pertenecer en realidad al género *Arcobacter*.

Se ha propuesto la creación de una nueva familia (*Campylobacteraceae*) que reúna los géneros *Campylobacter* y *Arcobacter*. En ella se incluirían además de las especies previamente mencionadas: *C. fetus* spp. *veneralis*, *C. curvus*, *C. mucosalis*, *C. sputorum* biovar *bubulus*, *C. sputorum* biovar *fecalis*, *A. cryaerophilus* y *A. nitrofigilis*. Las especies pertenecientes al género *Helicobacter* como *H. pylori*, *H. cinaedi* y *H. fennelliae*, quedarían excluidas de esta clasificación.

Campylobacter sp. puede constituir a nivel mundial uno de los agentes más comunes de gastroenteritis bacteriana aguda. Las campylobacteriosis presentan un período de incubación de 2 a 5 días y afectan preferentemente a niños y personas jóvenes. En regiones no desarrolladas esta enfermedad queda confinada a grupos de población pediátrica, de manera que exposiciones repetidas a la bacteria a lo largo de la vida originan una situación de inmunidad.

Diagnóstico microbiológico

En algunos casos puede obtenerse un diagnóstico presuntivo de estas infecciones a partir del examen microscópico en fresco de muestras de heces. Generalmente es posible visualizar exudados inflamatorios con leucocitos y en ocasiones se detecta la presencia de moco y sangre. Las técnicas de campo oscuro y de contraste de fases permiten observar el rápido y típico movimiento de estos bacilos curvados. El diagnóstico microbiológico definitivo se lleva a cabo mediante coprocultivo en medios selectivos. Estos medios son incubados durante 48-72 horas en una atmósfera microaerófila o con un 10% de CO₂. *Campylobacter* crece a 37°C, sin embargo la incubación a 42°C permite recuperar específicamente aquellas especies termófilas implicadas con más frecuencia en cuadros de enteritis (*C. jejuni* y *C. coli*).

Los nuevos medios de cultivo basados en carbón pueden reemplazar o complementar a otros medios selectivos de agar-sangre para el aislamiento primario a partir de muestras fecales de *C. jejuni* y *C. coli*. Algunas especies aerotolerantes de *Campylobacter* pueden no detectarse bajo

las condiciones de cultivo habituales para el aislamiento de *C. jejuni* y *C. coli*.

Estos microorganismos son en ocasiones sensibles a los antimicrobianos incorporados a los medios selectivos estandar y pueden no crecer a 42°C. El método de filtración descrito por McDermont y Steele resulta adecuado para el aislamiento de estas especies. Este método consiste en filtrar una suspensión de heces a través de una membrana de 0,45µm de poro, colocada sobre una placa no selectiva de agar sangre. La membrana se retira a los 30 minutos y las placas se incuban a 37°C en una atmósfera con un 5% de oxígeno.

A fin de aumentar la tasa de aislamiento de estas bacterias, actualmente se recomienda incluir simultáneamente diferentes medios de cultivo, proceder a su incubación por duplicado a 37°C y 42°C y emplear el método de filtración en membrana conjuntamente con el procedimiento convencional de siembra en placas selectivas. La identificación presuntiva a nivel de género se realiza mediante la observación microscópica de las típicas formas bacilares curvadas (tinción de Gram) y los resultados positivos para las pruebas de oxidasa y catalasa (*C. upsaliensis* puede aportar resultado negativo o débil positivo para esta última prueba).

Entre las pruebas microbiológicas clásicas utilizadas para el diagnóstico definitivo se incluyen la producción de H₂S, reducción de nitrato, hidrólisis de hipurato, crecimiento a diferentes temperaturas (25°C y 42°C) y sensibilidad a resistencia a distintos antimicrobianos. El test de sensibilidad frente a ácido nalidíxico, mediante el método de difusión en placa con un disco de 30 µg, se ha utilizado durante años para distinguir *C. jejuni* y *C. coli* (sensibles) de otras especies termófilas resistentes a este agente. Sin embargo, la aparición de cepas de *C. jejuni* y *C. coli* resistentes a ácido nalidíxico puede dificultar el proceso de identificación de estos microorganismos. Otra prueba clásica como es la hidrólisis de hipurato, utilizada tradicionalmente para diferenciar *C. jejuni* (hipurato +) y *C. coli* (-) ha sido cuestionada debido a la posibilidad de presentación de cepas de *C. jejuni* hipurato negativas y cepas de *C. coli* hipurato positivas. Entre los tests alternativos respecto a las pruebas clásicas se incluyen la utilización de D-malato (asociada a la actividad hipuricásica) que puede resultar de utilidad para la confirmación de cepas hipurato negativas y débilmente positivas y la hidrólisis de

indoxilacetato (positiva para *C. jejuni* y *C. coli* independientemente de la sensibilidad o resistencia a ácido nalidíxico).

El serotipado de los aislamientos mediante aglutinación en porta (antígenos termolábiles) y hemaglutinación pasiva (antígenos termoestables) puede resultar de utilidad con fines epidemiológicos.

En casos de cultivo negativo y sospecha de posible infección previa por *C. jejuni* (ej. eritema nodoso y artritis reactiva) los métodos serológicos pueden suponer una alternativa diagnóstica. Entre estos métodos destacan las técnicas de ELISA preparadas mediante extractos antigénicos de glicina ácida.

Indicaciones de tratamiento antibiótico

La mayoría de los procesos diarreicos debidos a infecciones por *Campylobacter* sp. son leves y no requieren tratamiento antibiótico. En caso de diarrea severa esta indicada la terapia antimicrobiana, que debe iniciarse lo mas precozmente posible.

Por razones farmacocinéticas (estabilidad a pH ácido, absorción incompleta) el estearato de eritromicina constituye el agente de elección para el tratamiento en adultos. En niños es preferible, por su mejor tolerancia, la administración de etilsuccinato de eritromicina. Otras alternativas terapéuticas pueden incluir los nuevos macrólidos (como claritromicina, roxitromicina y rokitamicina) y fluoroquinolonas (como ciprofloxacina). Debido a la posibilidad de desarrollo de resistencia a ciprofloxacina durante el tratamiento, se recomienda reservar las fluoroquinolonas para aquellos casos de resistencia a macrólidos .

HELICOBACTER PYLORI

Generalidades

Helicobacter pylori es un bacilo curvado, Gram negativo, oxidasa, catalasa y ureasa positivo que crece lentamente en cultivo microaerófilo. La presencia de esta bacteria fue ya observada en muestras de tejido humano a comienzos de este siglo, sin embargo, su cultivo no se logró hasta 1982 cuando Warren y Marshall aislaron el bacilo a partir de biopsias de mucosa gástrica obtenidas de pacientes con gastritis. Este microorganismo fue considerado en un principio como una especie integrante del género *Campylobacter*, y debido a su morfología (bacilos curvados) y su nicho ecológico (antro pilórico) fue denominado *C. pyloridis* y posteriormente *C. pylori*. Su adscripción

definitiva al nuevo género *Helicobacter* data de 1989.

En la actualidad *Helicobacter pylori* se considera, en base a criterios microbiológicos, histológicos y clínicos, el agente etiológico de la gastritis crónica tipo B. En los últimos años se ha relacionado esta infección con otros procesos gastroduodenales tales como el úlcus péptico y se ha debatido incluso su implicación en el desarrollo de cáncer gástrico.

Diagnóstico microbiológico

El diagnóstico de gastritis asociada a *Helicobacter pylori* se basa en diferentes técnicas que pueden agruparse en 2 grandes categorías: técnicas invasivas, que requieren la obtención de muestras de mucosa gástrica tomadas por endoscopia digestiva alta y técnicas no invasivas, que permiten el diagnóstico de la infección sin someter al paciente al procedimiento endoscópico.

Los métodos invasivos incluyen el examen histológico de muestras de mucosa gástrica, que permite además de la detección de la bacteria la identificación de las lesiones histológicas asociadas a la presencia del microorganismo y el cultivo microbiológico a partir de este mismo tipo de muestras, necesario para el tipaje y la determinación del nivel de sensibilidad antibiótica de las cepas aisladas. Estos dos procedimientos diagnósticos han sido los más empleados y considerados, en general, los métodos de referencia frente al cual se han comparado los resultados obtenidos mediante otras técnicas.

Entre otras tinciones utilizadas para la detección histológica de *Helicobacter pylori* destacan la de Warthin-Starry y hematoxilinaeosina. Sin embargo, debido a su sencillez y bajo costo, la tinción de Giemsa puede considerarse de elección para el diagnóstico histológico en muestras gástricas. Los procedimientos histológicos requieren un mínimo de dos días para su realización. Una posibilidad para agilizar la detección de esta bacteria consiste en el examen microscópico sobre improntas realizadas a partir de las muestras gástricas teñidas mediante tinción de Gram, naranja de acridina o bromuro de etidio.

El cultivo de este microorganismo se debe realizar lo más rápidamente tras la obtención de la biopsia. En caso de demora se puede mantener la muestra a 4°C en un medio de transporte como suero salino, solución de gincosa al 20%, BHI con un 1%

de suero, seroalbúmina bovina a 0,5% suplementada con catalasa al 0,1% o medio de Stuart. Se han descrito medios de transporte bifásicos que incorporan diversos agentes antimicrobianos para evitar la contaminación por otras bacterias. Las muestras de mucosa gástrica pueden congelarse a -70°C permitiendo la recuperación de la bacteria después de varios meses tras su obtención. La siembra se realiza mediante impregnación de la biopsia en el medio de cultivo sólido, presionando con una torunda estéril o un asa de aislamiento. Una alternativa es la homogeneización de la muestra previa a su siembra.

Se dispone de una amplia gama de medios sólidos de cultivo para el aislamiento de este microorganismo. Algunos medios no selectivos de uso habitual, como agar sangre o agar chocolate, resultan útiles en muestras con bajo índice de contaminación. En estos medios las colonias de *Helicobacter pylori* aparecen de color grisáceo y aproximadamente 1 mm de diámetro. Se puede sustituir la sangre de caballo o de carnero por carbón, yema de huevo, almidón o ciclodextrina. En ocasiones se incluye hemina, isovitalex, suero fetal bovino, extracto de levadura o BHI como suplemento nutritivo. La incorporación de antibióticos como ácido nalidíxico (10-20 mg/l), vancomicina (3-10 mg/l), cotrimoxazol (5 mg/l) cefsulodina (5 mg/l) o anfotericina (2-10 mg/l) proporciona una selectividad adecuada para el aislamiento del microorganismo.

La tasa de aislamiento de la bacteria se puede elevar cuando se siembra más de una biopsia de cada paciente (antral y cuerpo) y cuando se utilizan conjuntamente varios medios de cultivo. Se recomienda la incubación de todos estos medios en una atmósfera microaerofílica con un 5-10% de CO₂, 5-10% de O₂ y 80-90% de N₂ a 37°C durante al menos 7 días. Un suplemento de un 5-8% de hidrógeno puede potenciar el crecimiento del microorganismo. La incubación de las placas en estufa de CO₂ (10% de CO₂ y humedad relativa del 98%) permite también el crecimiento de este bacilo, aunque parece que en estas condiciones el porcentaje de aislamiento primario puede reducirse.

La identificación del microorganismo es sencilla y puede obtenerse mediante reacciones positivas para catalasa, oxidasa y ureasa. La tinción del Gram de las colonias muestra los típicos bacilos curvados Gram negativos.

Un método invasivo indirecto está constituido por el test rápido de ureasa. Este procedimiento consiste en introducir una porción de biopsia gástrica en una solución de urea a la que se incorpora un indicador de pH como rojo fenol. El microorganismo presente en la muestra cataliza la degradación de la urea generando amonio y bicarbonato. Esta reacción origina un aumento de pH y da lugar a un viraje de color de amarillo a rojo o rosa. Este método permite obtener resultados inmediatos o en tan solo unas cuantas horas. Entre sus desventajas cabe señalar la posibilidad de aparición tanto de resultados falsos positivos, debido a la existencia de microorganismos contaminantes capaces de metabolizar la urea, como de resultados falsos negativos, en el caso de la presencia de cepas de *Helicobacter pylori* metabólicamente inactivas.

Recientemente se han introducido nuevas técnicas como la amplificación de ADN bacteriano mediante la reacción en cadena de la polimerasa realizada sobre muestras de mucosa gástrica. Este método, capaz de detectar la presencia del microorganismo en cantidades tan bajas como 10-100 células bacterianas, se muestra como una alternativa diagnóstica prometedora.

Con objeto de llegar al diagnóstico de una manera no traumática, en los últimos años se han introducido distintas técnicas no invasivas como el test del aire espirado ("urea breath test") y las determinaciones serológicas que permiten un diagnóstico indirecto de la infección.

En la actualidad existen varios métodos aplicables al diagnóstico serológico de esta infección incluyendo: aglutinación bacteriana, fijación de complemento, hemaglutinación pasiva, inmunofluorescencia indirecta, aglutinación mediante partículas de latex marcadas con antígeno bacteriano, inmunoblot y técnicas de enzimoinmunoanálisis (ELISA-EIA). Entre todas las técnicas serológicas empleadas para el diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori*, han destacado los procedimientos de enzimoinmunoanálisis (EIA).

Indicaciones de tratamiento antibiótico

Helicobacter pylori es sensible "in vitro" a gran cantidad de agentes antimicrobianos incluyendo: betalactámicos (excepto cefsulodina), macrólidos, quinolonas, tetraciclinas o aminoglicósidos. La sensibilidad a metronidazol varía según el origen de la cepa y puede determinar el

éxito o fracaso de una terapia. Sin embargo, a pesar de la excelente actividad "in vitro" de muchos agentes antibióticos, la erradicación de la bacteria resulta en muchas ocasiones difícil y en la actualidad se recomienda el tratamiento combinado (dos o tres fármacos) con amoxicilina o tetraciclina, metronidazol o tinidazol y omeprazol o sales de bismuto. La eliminación de la bacteria de la mucosa gástrica mediante tratamiento antibiótico combinado se asocia con la resolución de las lesiones histológicas y la mejoría de la sintomatología clínica, tanto en la gastritis crónica tipo B como en la enfermedad ulcerosa péptica.

AEROMONAS MESOFILAS

Generalidades

El grupo de las *Aeromonas* mesófilas está constituido por aquellas especies con capacidad para crecer a 37°C. Debido a la dificultad para establecer la correcta posición taxonómica de algunas especies y al hecho de que a un mismo fenotipo le correspondan genotipos distintos, es preciso hallar en este grupo bacteriano de genoespecies. Entre las principales genoespecies incluidas en este grupo *A. hydrophila*, *A. sobria* y *A. caviae* son las que se aíslan con una mayor frecuencia en los procesos gastrointestinales humanos.

El hábitat normal de las *Aeromonas* lo constituyen los ambientes acuáticos y el suelo de las zonas pantanosas húmedas. La distribución universal de estas bacterias se basa en su presencia casi constante en todos los sistemas acuáticos con escasa o baja salinidad. Junto con la ingesta de agua contaminada y la aspiración de agua durante el baño en ambientes naturales, los alimentos pueden ser para el hombre otra posible fuente de contagio. Las diferentes especies de *Aeromonas* han podido ser aisladas a partir de alimentos de origen animal, no solo como parte de su propia flora sino como flora aeróbica de los fragmentos de carne en el momento del envasado.

Diagnóstico microbiológico

Las especies incluidas en el grupo de las *Aeromonas* mesófilas no muestran excesivas dificultades para crecer en los diferentes medios de cultivo no selectivos utilizados de forma rutinaria (agar sangre, agar chocolate). Sin embargo, los principales problemas surgen cuando se desea aislar estos microorganismos a partir de muestras contaminadas o con una

importante flora acompañante como son las heces (coprocultivos). Aunque en general las *Aeromonas* crecen en los medios utilizados para el aislamiento de otros enteropatógenos (agar MacCenkey y Hektoen), su morfología coliforme y el hecho de que cerca del 30% de las cepas se muestren como lactosa-positivas, determina una dificultad añadida para distinguirlas del resto de bacterias aisladas en muestras fecales.

Aunque no existe un medio ideal utilizado de forma rutinaria para el aislamiento de *Aeromonas* de las heces, el agar sangre con ampicilina (ASA-10 µg/ml) y el medio CIN (agar cefsulodina -irgasan-novobiocina) parecen ser los que han mostrado un mayor rendimiento. El primero de ellos debe ser incubado a 37°C durante 18-24 horas y permite la detección de la actividad oxidasa directamente de las colonias, así como la observación de la actividad B-hemolítica; sin embargo, no parece ser un medio excesivamente selectivo. Además la existencia de unos porcentajes no despreciables de aislamientos con elevada sensibilidad a la ampicilina (5-10%), hace que no pueda ser utilizado en todas las zonas geográficas de forma rutinaria hasta que se conozca el perfil de sensibilidad antibiótica de las cepas predominantes en la misma.

Una muy buena alternativa al medio ASA-10 es el medio CIN descrito para el aislamiento preferencial de *Y enterocolitica* de las heces. En este medio se consigue el crecimiento de ambos géneros bacterianos (*Yersinia* y *Aeromonas*). Un problema de este medio es la imposibilidad de detectar la presencia del enzima citocromo-oxidasa directamente de las colonias. A la hora de utilizar este medio de cultivo deben tenerse presentes dos puntos muy importantes: El medio idóneo para el aislamiento de *Aeromonas* es la forma modificada de la fórmula original, lo que se ha descrito como CIN-II; es decir el medio que contiene tan solo 4µg/ml de cefsulodina en vez de los 15 µg/ml, ya que esta concentración tan elevada parece inhibir el crecimiento de un porcentaje de cepas. Sin embargo, debido a que el medio CIN-II no está comercializado y al hecho de que en otros estudios se halla demostre cómo el medio CIN en su fórmula original no tan solo permite el crecimiento de la mayoría de las especies, sino que además permite un incremento del 35% en las tasas de aislamiento, hacen recomendable el empleo rutinario del medio CIN para la recuperación de *Aeromonas*. El

segundo punto a destacar es que el medio CIN debe incubarse a 25-30°C y no a 37°C, debido a las diferencias de sensibilidad antibiótica observadas en función de la temperatura y a la mayor capacidad intrínseca de las *Aeromonas* para crecer mejor a temperaturas ambientales cuando se utilizan medios hostiles selectivos.

La utilidad de los caldos de enriquecimiento para el aislamiento de *Aeromonas* de las heces es una cuestión controvertida. Se ha comprobado que el empleo de agua peptonada alcalina como caldo de enriquecimiento tan solo contribuye en un porcentaje no superior al 1% a la tasa final de aislamientos. Este hace pensar que los pacientes con diarrea por *Aeromonas* eliminan una gran cantidad de microorganismos en sus heces, lo cual permite su detección fácil en los medios de siembra directa, sin que por lo tanto se precise del enriquecimiento de las muestras.

Sensibilidad antibiótica

De acuerdo con los principales estudios realizados in vitro sobre la sensibilidad antibiótica de las *Aeromonas*, estos microorganismos pueden considerarse como prácticamente resistentes a la ampicilina (excepto *A. trota*), carbenicilina, ticarcilina, cefazolina y cefalotina y sensibles a la azlocilina, mezlocitina, cefalosporinas de tercera generación, aminoglicósidos, tetraciclinas, cloranfenicol, cotrimoxazol y fluoroquinolonas.

PLESIOMONAS SHIGELLOIDES

Generalidades

P. shigelloides es un bacilo gram negativo, oxidasa-positivo y móvil que pertenece a la familia *Vibrionaceae*. Este microorganismo forma parte del medio ambiente, pudiendo aislarse de las aguas ambientales, del suelo y de los animales (peces y mariscos). Ha sido implicado en algunos brotes de gastroenteritis asociados al consumo de ostras y pescado crudo y se han descrito casos de diarreas espontáneas, preferentemente en adultos, sin ningún tipo de asociación epidemiológica. Además es capaz de producir infecciones extraintestinales (sepsis y meningitis) de elevada mortalidad, afectando generalmente a pacientes con enfermedades de base.

La incidencia de diarrea por *P. shigelloides* es relativamente baja y parece estar comprendida entre el 0,5 - 16,9%, aunque varía ampliamente dependiendo de la zona geográfica y de los medios de cultivo y

enriquecimiento utilizados. Esta entidad predomina en el sudeste Asiático, mientras que en Estados Unidos y Europa parece ser un proceso poco frecuente. En nuestro país su incidencia es muy baja y parece ser inferior al 0,5%.

P. shigelloides no se considera un microorganismo que forme parte de la flora normal del ser humano; así se ha observado como las tasas de portadores sanos son muy bajas, oscilando entre el 0,0078 y el 0,26%. Por ello el aislamiento de *P. shigelloides* en las heces de un paciente con diarrea, en ausencia de otro enteropatógeno, debería ser considerado como significativo y probablemente el responsable del proceso infeccioso.

Diagnóstico microbiológico

En general no se precisan medios de transporte específicos para el aislamiento de *P. shigelloides*, siendo útiles los recomendados para el resto de enteropatógenos. *P. shigelloides* es capaz de crecer en la mayoría de medios de cultivo poco selectivos utilizados para el aislamiento de enteropatógenos (MacConkey). Se han descrito algunos medios selectivos y/o diferenciales que favorecen su detección en las heces (inositol-verde brillante-sales biliares, agar *Plesiomonas* y agar Rimler-Shotts modificado), sin embargo no parece recomendable su utilización rutinaria. Aunque crece en los caldos de enriquecimiento (agua peptonada alcalina y caldo tetracionato), estos medios líquidos sólo son recomendados para muestras no humanas (alimentos).

Sensibilidad antibiótica

Los diferentes estudios de sensibilidad "in vitro" han demostrado que *P. shigelloides* es un microorganismo resistente a ampicilina pero sensible a la mayoría de antibióticos utilizados habitualmente para otros enteropatógenos. Para el tratamiento de casos severos o formas crónicas se recomienda cotrimoxazol, tetraciclinas, cloranfenicol o fluoroquinolonas.

VIBRIO SP.

Generalidades

El género *Vibrionaceae* está constituido por un conjunto de bacilos gram negativos curvados, aerobios y anaerobios facultativos, móviles y oxidasa positivos que forman parte del medio ambiente hídrico, preferentemente marino. El principal modulador de su presencia en estos

ecosistemas lo constituye la temperatura y el grado de salinidad. Este género contiene alrededor de unas 34-35 especies distintas, de las cuales unas doce pueden ser consideradas como patógenas humanas. Las especies patógenas humanas pueden clasificarse en halófilas o no halófilas según requieran la presencia de ciertas concentraciones de cloruro sódico para su crecimiento óptimo (mínimo 1 %).

La gastroenteritis causada por *Vibrios* puede ser de tipo colérica o no colérica. En la forma epidémica de tipo colérica (*V. cholerae* serogrupos 01 y 0139 y algunas cepas de *V. cholerae* no 01 las principales manifestaciones clínicas son una diarrea líquida secretora muy abundante, con grandes pérdidas hidroelectrolíticas y profunda deshidratación, asociada a vómitos que afecta preferentemente a la población infantil. La forma no colérica (*V. parahaemolyticus* y otros) no es diferenciable de la diarrea acuosa autolimitada, con náuseas, vómitos y dolor abdominal, causada por otros enteropatógenos.

Diagnóstico microbiológico

Para incrementar y favorecer el aislamiento de *V. cholerae* y otras especies se recomienda en empleo de caldos de enriquecimiento. Los más utilizados son el agua peptonada alcalina (pH 8,5) y el caldo triptisoya, ambos con un 3% de NaCl. Estos caldos deben incubarse a 37°C durante un máximo de 6-8 horas para evitar la pérdida de selectividad y el sobrecrecimiento saprófito. Estudios recientes han demostrado cómo la incubación de los mismos a 42°C incrementa significativamente los aislamientos de *V. cholerae* con escasas tasas de contaminación fecal. Transcurrido el período de incubación los caldos deben ser sembrados en medios selectivos.

La mayoría de especies no presentan excesivas dificultades para crecer en los medios poco selectivos utilizados para el aislamiento de enteropatógenos (MacConkey). Sin embargo, debido a la posibilidad de que la flora fecal saprófita dificulte la detección de estos microorganismos y en especial para el aislamiento de *V. cholerae*, se recomienda el empleo del medio TCBS (tiosulfato-citratosaes biliares-sacarosa). En este medio *V. cholerae*, *V. alginolyticus*, *V. fluvialis* y *V. furnissii* producen colonias amarillas (sacarosa-positivas); el resto de especies se comportan en general como

sacarosa-negativas (*V. parahaemolyticus*). Por ello es difícil establecer el criterio de selección de las colonias crecidas en el medio TCBS; en nuestra zona geográfica, sin la existencia de casos de cólera, deberían seleccionarse colonias sacarosa-negativas; además en este medio y sobre este tipo de colonias se puede realizar la prueba de la oxidasa (las colonias sacarosa positiva pueden aportar resultados de oxidasa falsamente negativos), lo cual permite confirmar la sospecha de un *Vibrio*. La especie *V. hollisae* no crece en el medio TCBS, recomendándose en este caso el empleo del medio sacarosa-teluritoteepol. Así mismo, han sido descritos otros medios de cultivo selectivos para algunas determinadas especies; sin embargo su empleo rutinario no está recomendado.

En las zonas no endémicas de cólera, el empleo rutinario del medio TCBS en todas las muestras fecales no parece rentable y por lo tanto no debería recomendarse. La incidencia de gastroenteritis por especies halofílicas de *Vibrio* es inferior al 1%, por ello sólo en aquellos casos en los que las manifestaciones clínicas muestren un alto grado de sospecha, el paciente proceda de una zona endémica o existan antecedentes epidemiológicos sugestivos, debería añadirse la placa TCBS en el proceso del coprocultivo.

Frente a la sospecha de *V. cholerae* se pueden realizar una serie de técnicas rápidas que permitan identificar esta especie. Así la prueba del "string test" (5% de desoxicolato sódico en suero fisiológico) o el empleo de anticuerpos monoclonales fijados a distintos soportes sólidos (latex, hematies) permiten el diagnóstico de especie con una elevada especificidad y sensibilidad. También los métodos moleculares (sondas y amplificación genética del gen *ctx*) han sido utilizados con fines diagnósticos para la detección rápida de toxina colérica mostrando una elevada eficacia.

Una vez identificada la cepa como *V. cholerae* debería ser comunicada a la autoridad sanitaria competente y remitida a un centro de referencia para ser biotipada y serotipada y establecer su pertenencia a alguno de los serogrupos responsables de las epidemias coléricas. Es preciso establecer la producción de toxina colérica por la cepa aislada para lo cual pueden emplearse los métodos anteriormente mencionados. Las cepas de *V. cholerae* se clasifican en 138 serogrupos, siendo la responsable del cólera el serogrupo O1; el

resto de serogrupos se designan genéticamente como *V. cholerae* no O1 o cepas no aglutinables (NAG). En la actualidad el serogrupo O1 de *V. cholerae* biovariedad Eltor (serotipo Ogawa e Inaba) está siendo desplazado en las zonas endémicas por el serogrupo O139 (cepa Bengala), determinando probablemente el inicio de la octava pandemia de cólera.

Indicaciones de tratamiento antibiótico

El tratamiento de la diarrea coleriforme consiste fundamentalmente en la reposición de las pérdidas hidroelectrolíticas; la adición de antibióticos parece incrementar la tasa de curaciones, acortar el tiempo de eliminación de los microorganismos, disminuir el volumen líquido perdido y mejorar la evolución clínica de los pacientes. En general las cepas de *V. cholerae* se muestran sensibles a ampicilina, tetraciclinas, cloranfenicol y aminoglicósidos, aunque en ciertas zonas de Asia predominan las cepas multirresistentes frente a estos antimicrobianos y cotrimoxazol. En estos casos el empleo de las fluoroquinolonas en los adultos o el ácido nalidíxico en los niños podrían ser alternativas terapéuticas válidas. Las diarreas causadas por otros *Vibrios* son generalmente autolimitadas y no precisan de tratamiento antibiótico.

YERSINIA SP.

Generalidades

El género *Yersinia* está constituido actualmente por un conjunto de 11 especies patógenas y saprófitas que forman parte de la flora ambiental y pueden producir infecciones tanto en animales como en el ser humano. Las especies *Y. pestis* y *Y. pseudotuberculosis* son consideradas como causantes de infecciones zoonóticas, aunque también producen infecciones humanas tanto extraintestinales (peste, cuadros pseudoapendiculares, adenitis mesentérica) como gastrointestinales casi siempre asociadas al contacto con animales (reservorio). Dentro de las gastroenteritis *Y. enterocolitica* es la principal especie implicada, ocasionando en el ser humano una diarrea preferentemente de tipo invasivo con proliferación en la submucosa intestinal.

Diagnóstico microbiológico

La mayoría de especies patógenas de *Yersinia* pueden aislarse en los medios utilizados rutinariamente para el aislamiento de enteropatógenos (MacConkey, SS). En

estos medios dan lugar generalmente a unas colonias lactosa-negativas de un tamaño muy pequeño, lo cual permite diferenciarlas de otras enterobacterias. Sin embargo, la incubación a 37°C no favorece el crecimiento preferencial de éstas especies y además debido a que la concentración de estos microorganismos en las heces de los pacientes con diarrea, y en los alimentos implicados en estos procesos es baja, podría ser útil el empleo no sólo de caldos de enriquecimiento sino de medios de cultivo selectivos y diferenciales que favorezcan su detección. La utilización de caldos de enriquecimiento, tales como tampón fosfato salino (PBS), caldo Rappaport o bilis-oxalato-sorbose, incubados a 4°C durante períodos prolongados de tiempo (14-21 días), determina un incremento en el número de cepas de *Yersinia* aisladas de las heces. No obstante, la mayoría de los aislamientos corresponden a serotipos, biovariedades o especies ambientales no implicadas en patología humana. Por lo tanto no parece recomendable la siembra rutinaria de caldos de enriquecimiento en las infecciones entericas humanas.

De los diferentes medios de cultivos estudiados para el aislamiento de las especies patógenas de *Yersinia*, el que ha mostrado un mayor rendimiento es el designado como agar CIN (cefsulodina-irgasan-novobiocina). En este medio las colonias de *Y. enterocolitica* aparecen (tras 24 horas de incubación a 25-30 °C) con una morfología peculiar designada en "ojo de buey" y consistente en un centro rojo rodeado de una zona transparente. La incubación del medio CIN más allá de 24 horas no parece recomendable debido a que las colonias, transcurrido este período, no muestran su morfología típica y pueden confundirse con las de *C. freundii*. Algunos autores cuestionan la necesidad del uso rutinario del medio CIN en aquellos países con una incidencia baja de yersiniosis (menos del 1%), sin embargo la observación de que este medio permite además el aislamiento de la mayoría de especies incluidas en el grupo *Aeromonas* mesófilas, hace que sea recomendable su utilización en el protocolo de aislamiento de enteropatógenos.

Debe tenerse presente que no todas las cepas aisladas, tras enriquecimiento o por siembra directa, poseen significación clínica y que por lo tanto es recomendable estudiar la presencia de algunos factores de virulencia en los aislamientos. El serotipado

parece ser un buen marcador de virulencia. Aunque existen más de 50 serogrupos de *Yersinia* distintos, la mayoría de las cepas patógenas humanas (más del 90%) corresponden a los serogrupos 01, 2a, 3; 03; 05,27; 08 y 09. También el biotipado, y en particular el estudio de algunas pruebas bioquímicas concretas (pirazinamidasas, fermentación de la salicina, hidrólisis de la esculina y formación de colonias pequeñas en el medio CR-MOX), permiten definir aquellas cepas con un marcado carácter virulento frente a las cepas no pertenecientes a los serotipos patógenos o de predominio ambiental. Sin embargo, sólo el estudio del contenido plasmídico y de las características fenotípicas que codifica, indicarán de una forma definitiva la naturaleza virulenta y el grado de patogenicidad de una determinada cepa.

Sensibilidad antibiótica

La mayoría de cepas de *Y. enterocolitica* aisladas en nuestro país son resistentes a ampicilina, cloranfenicol y cotrimoxazol, aunque sensibles a las cefalosporinas de amplio espectro, aminoglicósidos, fluoroquinolonas y tetraciclinas. Sin embargo, la utilidad clínica del tratamiento antibiótico en las diarreas no complicadas no está confirmada.

CLOSTRIDIUM DIFFICILE

Generalidades

C. difficile es un bacilo gram positivo esporulado que parece formar parte de la flora saprófita intestinal del ser humano y de algunas especies animales. A pesar de ello ha sido implicado como causante de diversos procesos digestivos entre los que se encuentran la diarrea asociada a antibióticos, colitis ulcerosas, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria intestinal y algunas formas de megacolon tóxico. Sin embargo, la importancia de *C. difficile* radica fundamentalmente en ser el principal responsable del proceso patológico designado como colitis pseudomembranosa (CPM). La CPM puede presentarse como un proceso diarreico moderado autolimitado o degenerar hacia una pancolitis, provocando un megacolon tóxico y una perforación intestinal en los casos graves.

Además del tubo digestivo, *C. difficile* (o sus esporas), puede ser recuperado del medio ambiente que rodea a las personas portadoras o afectas de CPM, ya que en este hábitat puede sobrevivir durante períodos muy prolongados de tiempo. Este fenómeno es de especial importancia en los

ambientes hospitalarios en donde las epidemias de CPM se producen generalmente como consecuencia de la falta de adopción de las medidas higiénicas de control adecuadas.

La implicación de *C. difficile* como principal agente causante de la CPM radica tanto en su aislamiento en las heces de los pacientes con este proceso, como en la demostración de la capacidad del microorganismo para elaborar una serie de toxinas que son las verdaderas responsables del proceso inflamatorio y diarreico. *C. difficile* es capaz de producir varios tipos de toxinas, aunque las responsables de la CPM son una enterotoxina (toxina A) y una citotoxina (toxina B). Ambas toxinas son proteínas de elevado peso molecular con actividad enterotóxica, citotóxica y de letalidad. Se fijan a unos receptores específicos presentes en la mucosa del colon y constituidos por un trisacárido que contiene restos de galactosa.

Diagnóstico microbiológico

El diagnóstico de laboratorio de la CPM asociada a *C. difficile* es un proceso controvertido. La existencia de portadores humanos sanos hace que el simple aislamiento del microorganismo no sea un dato suficiente para establecer el diagnóstico definitivo. A pesar de ello todavía el empleo del medio selectivo cicloserina-cefoxitina-fructosa-yema de huevo (CCFA) permite el crecimiento preferencial de *C. difficile* de las heces humanas. De este modo el 90-100% de los pacientes con presencia de citotoxina en heces presentan aislamiento del microorganismo en el medio CCFA. También se ha utilizado como método diagnóstico la detección, mediante cromatografía gas-líquida, de algunos compuestos de este microorganismo tales como el p-cresol o el ácido isocapróico. Sin embargo, al no ser estos compuestos exclusivos de *C. difficile* su detección no puede utilizarse como método clínico de diagnóstico.

Los diferentes estudios sobre patogenicidad y epidemiología recomiendan que sea la detección de la citotoxina (toxina B) en heces, más que la enterotoxina, la base del diagnóstico etiológico de esta entidad. Para la detección de las toxinas se han utilizado un gran número de técnicas diagnósticas, siendo las más usuales la aglutinación con partículas de latex sensibilizadas con anticuerpos frente a la toxina A o los diferentes métodos de

enzimoimmunoensayo (ELISA) con anticuerpos frente a las toxinas A y B. Sin embargo, a pesar de las dificultades técnicas que conlleva y debido a su extraordinaria sensibilidad (1 pg de toxina B y 10-20 ng de toxina A), la detección de la citotoxina en heces sobre cultivos celulares sigue siendo el método considerado de referencia con el que deben compararse otras técnicas diagnósticas.

La técnica de aglutinación por latex ha mostrado una elevada correlación con el cultivo en el medio CCFA; sin embargo se ha observado que esta correlación es debida a que el antígeno que detectan los anticuerpos en las partículas de latex está asociado a la propia bacteria y no a la enterotoxina. Además este sistema de latex da falsas aglutinaciones con cepas de *C. difficile* no toxigénicas y con antígenos presentes en otras especies de anaerobios. Por lo tanto el empleo de esta técnica debería ser confirmada con otros métodos de mayor especificidad.

Actualmente existen sistemas de ELISA que permiten la detección directa de las toxinas A y B mediante el empleo de anticuerpos específicos dirigidos contra ellas. La utilización de anticuerpos altamente específicos incrementa la eficacia de estos sistemas, de modo que pueden observarse importantes variaciones en sensibilidad y especificidad entre diferentes productos comerciales. En general la positividad detectada por estos sistemas está altamente correlacionada con la presencia de cepas toxigénicas de *C. difficile* en heces y con la presencia de pseudomembranas en la mucosa del colon. El valor predictivo de estos métodos ELISA ha resultado ser muy superior al de la técnica de latex y semejante al del cultivo celular, pudiendo ser recomendado su uso rutinario como apoyo microbiológico para el diagnóstico de la CPM.

El diagnóstico definitivo de la CPM se basará en el estudio epidemiológico y clínico del paciente, la existencia de antecedentes predisponentes (tratamiento antibiótico) y el estudio endoscópico de la mucosa del colon. Los estudios microbiológicos destinados a determinar la presencia de cepas toxigénicas de *C. difficile* apoyarán y confirmarán el diagnóstico de presunción.

Indicaciones de tratamiento antibiótico

En general la mayoría de procesos diarreicos, y la propia CPM asociada a *C. difficile*, mejoran con la supresión del agente

antimicrobiano inductor del proceso. En los casos persistentes o de elevada gravedad, la administración oral de vancomicina o metronidazol podría estar recomendada.

CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

Generalidades

C. perfringens es un bacilo gram positivo esporulado que forma parte de la flora anaeróbica normal del ser humano. Las cepas de *C. perfringens* se clasifican en cinco tipos (A-E) dependiendo del tipo de toxina que producen. Estas toxinas deben diferenciarse de las enterotoxinas secretadas por las cepas de *C. perfringens* tipo A causantes de intoxicación alimentaria. Las cepas enterotoxigénicas se consideran como causantes de diferentes procesos diarreicos asociados al consumo de alimentos contaminados (diarrea clásica), a ciertos casos de diarrea postantibiótica y a cuadros de diarreicos esporádicos (comunitarios y nosocomiales) no asociados con ningún brote alimentario.

La intoxicación alimentaria clásica causada por *C. perfringens* tipo A se caracteriza por producir dolor abdominal, náuseas y diarrea y presentar un período de incubación de 8 a 22 horas (aunque puede ser tan corto como 6 horas). La enfermedad es generalmente autolimitada y la recuperación se produce en 1 o 2 días. Para que se origine el crecimiento y desarrollo de *C. perfringens* en el tubo digestivo humano es preciso la ingesta previa de una elevada concentración de microorganismos; en general se calcula que la dosis infectiva está situada entre 10^6 - 10^8 UFC/g.

Diagnóstico microbiológico

Para el diagnóstico microbiológico de diarrea o intoxicación alimentaria causadas por cepas enterotoxigénicas de *C. perfringens* es preciso aislar este microorganismo tanto de las heces humanas como del alimento implicado. Debido a la existencia de portadores humanos es preciso realizar un estudio cuantitativo de las heces para poder dar significación clínica al aislamiento de *C. perfringens*; sólo el aislamiento de la bacteria en una concentración mínima mayor de 10^5 UFC/g puede representar su posible participación en el proceso diarreico. Sin embargo, debido a la dificultad existente en la obtención de los cultivos cuantitativos, el mejor criterio diagnóstico es la detección directa de la toxina A en las heces de los pacientes con diarrea. Existen varios métodos tanto biológicos como serológicos

para la detección de la enterotoxina tipo A de *C. perfringens*. Entre los procedimientos serológicos se encuentran: electroinmunodifusión, contraelectroforesis, hemaglutinación pasiva reversa, aglutinación pasiva reversa con partículas de latex (APRL) y enzimoimmunoensayos. De todos ellos la técnica de APRL es la que presenta un mayor grado de concordancia con los estudios de aislamiento cuantitativo y además se encuentra comercialmente disponible, de modo que puede ser utilizada rutinariamente en la mayoría de los laboratorios.

El diagnóstico definitivo de intoxicación alimentaria por *C. perfringens* se establecerá mediante el aislamiento de la misma cepa toxigénica (mismo serotipo) en una concentración significativa tanto en las heces como en los alimentos, así como en la detección de la enterotoxina tipo A en las heces del paciente.

Indicaciones de tratamiento antibiótico

Dada su naturaleza autolimitada, estos procesos diarreicos no precisan de un tratamiento antibiótico, debiendo aplicarse tan solo medidas de soporte o mantenimiento.

BACILLUS CEREUS

Generalidades

Bacillus cereus causa intoxicaciones alimentarias a través de la ingesta de alimentos contaminados. En general se admite que, debido a la levedad del cuadro y a que la detección microbiológica de esta bacteria no se realiza rutinariamente en pacientes diarreicos, la incidencia real puede ser superior a la estimada. La bacteria elabora dos tipos distintos de toxinas relacionadas con dos síndromes clínicos diferenciados: síndrome emético y síndrome diarreico.

Diagnóstico microbiológico

En medios no selectivos de uso generalizado como agar sangre esta bacteria origina grandes colonias betahemolíticas planas con apariencia de vidrio esmerilado. Sin embargo, en los casos de toxi-infección alimentaria la presencia de flora potimicrobiana en las muestras (heces, vómitos, alimentos) hace aconsejable el empleo de medios selectivos diferenciales como manitol-polimixina-yema de huevo, medio de Kim-Goepfert o manitol-polimixina-piruvato-yema de huevo con azul de bromotimol o púrpura de bromocresol.

En estos medios polimixina B actúa como agente selectivo. El carácter diferencial viene mediado por la actividad lecitinasasa de *Bacillus cereus* sobre la yema de huevo y su incapacidad para catabolizar la manitol. Los medios se incuban a 37°C durante 48 horas. En ocasiones puede ser conveniente emplear un medio previo de enriquecimiento como caldo de soja tripticosa con polimixina.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Generalidades

Aproximadamente la mitad de las cepas de *Staphylococcus aureus* generan alguna de las cinco enterotoxinas serológicamente distinguibles (A-E). Las toxi-infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* pueden constituir un alto porcentaje del total de los procesos de intoxicación alimentaria. Como ocurre en el caso de toxi-infecciones causadas por *B. cereus*, su incidencia parece ser subestimada debido al carácter poco severo del proceso y a la falta de confirmación microbiológica en la mayoría de los casos.

Diagnóstico microbiológico

Estos cuadros generalmente son leves y no llegan a ser filiaados microbiológicamente. La confirmación de la intoxicación radica en la detección de las enterotoxinas en los alimentos sospechosos. Actualmente se dispone de tests de aglutinación pasiva inversa por latex útiles para la detección de las enterotoxinas estafilocócicas A,B,C y D.

III. VIRUS PRODUCTORES DE GASTROENTERITIS

ROTAVIRUS

Generalidades

Estos agentes fueron los primeros virus asociados a procesos entéricos. Su identificación por Microscopía Electrónica (ME) se realizó en 1973. En la actualidad se considera el agente responsable del 30 al 60% de los casos de diarrea severa en niños.

Son virus desnudos de 70 nm de diámetro con estructura icosaédrica. Debido a la doble capsida que poseen, presentan un aspecto de rueda cuando se observan al ME, lo que les confiere su nombre. Su genoma consiste en una doble cadena de ARN segmentada. Se han reconocido 6 grupos antigénicos. El Grupo A es patógeno humano primario y los grupos restantes, del B al F, se asocian principalmente con animales. Los grupos B y C, también se han relacionado con infección en humanos: el

grupo B en epidemias de diarrea en adultos y el C como causa infrecuente y esporádica de diarrea infecciosa en niños.

Los Rotavirus del grupo A son la primera causa de gastroenteritis deshidratante en niños, e incluyen al menos 11 serotipos diferentes, de los que solo se han implicado en patología humana del 1 al 4.

El pico de incidencia de la enfermedad rotaviral se produce entre los 3 y los 18 meses de la vida, con mayor morbilidad alrededor de los dos años. Los niños mayores de 3 años raramente padecen una enfermedad severa, pero es frecuente la infección moderada o asintomática.

Los Rotavirus del grupo A no son considerados patógenos de adultos pero pueden causar enfermedad en ciertas circunstancias: contacto íntimo con un niño infectado, exposición a agua contaminada, viajes y de forma epidémica en poblaciones geriátricas.

Hasta los tres meses, los niños parecen ser relativamente resistentes a la infección, se cree que es debido a la transferencia transplacentaria de la inmunidad materna.

En el 80% de la población con edad superior a 3 años se detectan anticuerpos anti-rotavirus. Estos anticuerpos no son protectores, aunque pueden aumentar la sintomatología.

El período de incubación es de 3 días y la duración de la enfermedad de 5 a 7; en pacientes inmunodeprimidos la duración del proceso puede prolongarse sustancialmente. El cuadro clínico se caracteriza por diarrea acuosa, aguda, no inflamatoria y esporádica. Puede presentarse con hipertermia leve y son comunes los vómitos de aparición precoz.

Los Rotavirus se transmiten por la ruta fecal-oral y se ha propuesto la transmisión vía aérea. En países templados esta infección se produce de forma estacional, principalmente en los meses fríos, mientras que en los países tropicales se produce durante todo el año.

Diagnóstico virológico

Estos agentes son fácilmente detectados por ME, sin embargo se requiere más de un millón de partículas virales por gramo de heces para ser observados.

En la actualidad se dispone de una amplia variedad de ensayos basados en la detección del antígeno viral en las heces. Estos métodos incluyen técnicas de ELISA y latex que han sustituido al ME. Estas técnicas son específicas y sensibles, sin embargo en general solo detectan Rotavirus

del grupo A y no sirven para los grupos minoritarios.

Recientemente se han desarrollado sondas de ácidos nucleicos para hibridación, aplicables a la detección de Rotavirus del grupo A y B.

Las pruebas serológicas son poco útiles en el diagnóstico de la infección y no se encuentran disponibles comercialmente.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se ha utilizado para detectar Rotavirus presentes en las heces en pequeñas cantidades e identificar diferentes serotipos.

ADENOVIRUS ENTERICOS

Generalidades

Son virus desnudos con ADN de doble cadena y capsida icosaédrica, de 70-80 nm de diámetro. Se han descrito 41 serotipos diferentes distribuidos en 6 grupos, de la A a la F. Los serotipos 40 y 41, del grupo F, se asocian con la producción de gastroenteritis, son relativamente difíciles de aislar en los cultivos celulares estándar y no producen síntomas primarios de faringitis ni queratoconjuntivitis.

Algunos estudios demuestran que estos agentes son la segunda causa de gastroenteritis viral pediátrica después de los Rotavirus. Sin embargo, la implicación de estos virus como causa de gastroenteritis siguen siendo objeto de discusión, debido a la eliminación fecal asintomática entre la población sana.

La enfermedad se produce en niños menores de 2 años, en particular en el primer año de vida, es poco común en adultos y se ha relacionado con brotes nosocomiales.

El patrón de adquisición de anticuerpos se desarrolla durante la niñez. No se conoce si esta inmunidad es protectora. El período de incubación de 8 a 10 días y la duración de la sintomatología clínica de 5 a 12 días son superiores al resto de las gastroenteritis virales. Los síntomas incluyen diarrea acuosa prominente, seguida de 1 ó 2 días con vómitos. Los afectados de menor edad presentan fiebre baja durante dos o tres días. La deshidratación severa es poco común.

La infección parece transmitirse de persona a persona y no se presenta de forma estacional.

Diagnóstico virológico

Estos virus presentan dificultad para su aislamiento en cultivos celulares convencionales.

El diagnóstico presuntivo se puede realizar mediante la detección por ME en heces de partículas virales con morfología de adenovirus.

En los últimos años se han desarrollado métodos inmunológicos, como técnicas de ELISA y aglutinación con partículas de latex capaces de detectar la presencia de antígeno de adenovirus en muestras fecales. Estas técnicas emplean anticuerpos policlonales o monoclonales específicos de los serotipos 40 y 41 obtenidos por adsorción con los otros serotipos. Los resultados son peores si se usan sistemas con anticuerpos altamente específicos porque no pueden detectar variaciones genómicas de los Adenovirus entéricos.

La identificación de los serotipos 40 y 41 requiere una técnica confirmatoria como análisis de ADN viral, uso de sondas de ácidos nucleicos para hibridación, o inmunoensayos con anticuerpos monoclonales específicos capaces de detectar variantes antigénicas.

OTROS VIRUS PRODUCTORES DE GASTROENTERITIS

A diferencia de Rotavirus y Adenovirus entéricos, el resto de los virus productores de gastroenteritis humana son pequeños y redondos. Existe confusión acerca de su clasificación porque morfológicamente son similares entre sí y presentan dificultades para su aislamiento en cultivo celular. En los últimos años, sin embargo, se han podido caracterizar mejor en base a estudios morfológicos, moleculares, clínicos e inmunológicos. Como resultado se ha propuesto una clasificación provisional en 4 categorías: Norwalk y Norwalk-like, Calicivirus, Astrovirus y virus pequeños sin rasgos distintivos.

GRUPO DE VIRUS NORWALK

Generalidades

El agente que da nombre a este grupo de virus se identifica como causa de un brote de gastroenteritis en Norwalk, Ohio. El papel de estos virus como productores de gastroenteritis epidémica se ha podido determinar mediante estudios en voluntarios. Es un virus desnudo con simetría cúbica, su tamaño es de 27-32 nm. El genoma es ARN de cadena sencilla. Las propiedades de la única proteína estructural y del ácido nucleico del virus son típicas de Calicivirus, aunque la partícula viral difiere en algunos aspectos morfológicos, por lo que su clasificación es todavía incierta.

Los virus semejantes al Norwalk ("Norwalk-like" en la literatura) también son conocidos como virus estructurados, pequeños y redondos. Al microscopio electrónico presentan una estructura amorfa, con bordes desiguales y carentes de simetría. Tienen un tamaño de 27 a 35 nm y comparten una serie de propiedades como su densidad en cloruro de cesio, no ser cultivables en líneas celulares y originar epidemias o brotes familiares de gastroenteritis.

Estos virus semejantes al virus Norwalk se han denominado en base a la localización del brote original: Hawaii, Snow Mountain, Montgomery County, Taunton, Otofuke y Sapporo. Su biología, clínica y hallazgos inmunológicos son similares al virus Norwalk por lo que se tratan de forma conjunta.

Los virus Norwalk fueron los primeros caracterizados epidemiológicamente y sirven como prototipo de grupo. Este agente y sus relacionados son responsables del 40% de los brotes de gastroenteritis no bacteriana. Los brotes epidémicos se presentan en comunidades cerradas (centros recreativos, cruceros marítimos, familias, colegios, guarderías hospitalares) o como causa de diarrea del viajero asociada a la ingesta de bebidas (hielo) y alimentos (almejas, ostras) contaminados.

En países desarrollados, la prevalencia de anticuerpos es muy baja en niños, aumentando a lo largo de la adolescencia y juventud y llegando a un 60% en la población adulta. La frecuencia y tiempo de exposición a estos virus pueden ser importantes en el tipo de respuesta inmune generada. Hay una inusual forma de resistencia clínica a la infección viral que

parece estar relacionada con diferencias individuales de tipo genético, niños que con la inmunidad protectora después de una infección sintomática.

Los síntomas pueden surgir de forma gradual o repentina. Es frecuente la aparición de vómitos, diarrea y náuseas. Pueden aparecer síntomas constitucionales como cefalea, mialgia, fiebre y dolor abdominal. El período de incubación es de 12 a 48 horas y la duración de los síntomas es de 1 a 3 días. No se detecta sangre ni moco en las heces. A diferencia de otros virus entéricos, afectan principalmente a adolescentes y adultos. La transmisión se produce por la ruta fecaloral y se ha sugerido también la diseminación vía aérea. No se dispone de suficientes datos para establecer una clara estacionalidad.

Diagnóstico virológico

Las técnicas de ME e Inmuno-Microscopía Electrónica (IME) no aportan una aceptable rentabilidad diagnóstica debido a la falta de sensibilidad.

Los métodos de diagnóstico específico están restringidos a unos pocos laboratorios de investigación que usan reactivos humanos clínicos para realizar inmunoensayos.

Existen radioinmunoensayos (RIA) y enzoinmunoanálisis (EIA) para detectar antígeno viral en heces y anticuerpos en suero.

Se han desarrollado procedimientos de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la detección del virus Norwalk en muestras de alimentos, esta técnica es muy prometedora para la evaluación y prevención de brotes de gastroenteritis.

| IMPORTANCIA MEDICA, CARACTERISTICAS CLINICO-EPIDEMIOLOGICAS Y METODOS DE DIAGNOSTICO DE VIRUS PRODUCTORES DE GASTROENTERITIS HUMANA. | | | | |
|---|---------------------------|---|--|-----------------------------|
| VIRUS | IMPORTANCIA MEDICA | CARACTERISTICAS EPIDEMIOLOGICAS | CARACTERISTICAS CLINICAS | PRUEBAS DIAGNOSTICAS |
| Rotavirus Grupo A | Si | Principal responsable de diarrea severa endémica en niños en todo el mundo (durante el invierno en zonas templadas) | Diarrea deshidratante durante 5-7 días Fiebre y vómitos son muy comunes. | Inmunoensayo ME |
| Rotavirus Grupo B | Parcialmente | Grandes brotes en adultos y niños en China. | Diarrea acuosa severa durante 5-7 días. | ME |
| Rotavirus Grupo C | Parcialmente | Casos esporádicos en niños en todo el mundo. | Similar Rotavirus grupo A | ME |
| Adenovirus Entéricos | Si | Diarrea entérica en lactantes y niños pequeños. | Diarrea prolongada durante 5-12 días, Vómitos y fiebre | Inmunoensayo ME |
| Virus Norwalk | Si | Epidemias de vómitos y diarreas. Asociado al consumo de pescado o agua contaminada | Vómitos agudos, diarrea, fiebre, mialgia y dolor de cabeza durante 1-2 días. | Inmunoensayo ME |
| Virus Norwalk-like (virus estructurados, pequeños y redondos) | Parcialmente | Características similares a virus Norwalk. | Igual al virus Norwalk. IME | Inmunoensayo |
| Calicivirus | Parcialmente | Usualmente diarrea pediátrica. En adultos asociados al consumo de pescado o comida contaminada | En niños igual a Rotavirus. En adultos semejante a virus Norwalk. | Inmunoensayo ME |
| Astrovirus | Parcialmente | Diarrea pediátrica informada en guarderías. | Diarrea acuosa durante 2-3 días y ocasionalmente más prolongada | Inmunoensayo ME |

Las pruebas diagnósticas mediante inmunoensayo, con la excepción de Rotavirus Grupo A y Adenovirus Entéricos, están disponibles tan solo en centros especializados de investigación y laboratorios de referencia. Inmunoensayos normalmente son EIA o RIA.

CALICIVIRUS

Generalidades

Son virus desnudos, con ARN de cadena sencilla, simetría icosaédrica, de 27-38 nm de diámetro, con depresiones características en forma de cáliz en su superficie. Se cultivan "in vitro" con dificultad.

Los calicivirus humanos son agentes poco conocidos ya que no se han realizado estudios con voluntarios, ni se ha producido infección en animales o propagado en cultivo celular.

Hay al menos tres tipos serológicamente diferentes y se ha sugerido la existencia de otros dos adicionales. Se cree que tienen un antígeno común de grupo, ya todos ellos

son detectables por el único inmunoensayo desarrollado.

Provocan gastroenteritis, principalmente en niños menores de 5 años, en escuelas y orfanatos. El cuadro es clínicamente indistinguible de la enfermedad moderada producida por Rotavirus. Su período de incubación es de 1 a 3 días, con una duración de la enfermedad de 3 a 5 días.

Se ha descrito una manifestación de la enfermedad caliciviral similar a la enfermedad epidérmica producida por virus Norwalk; afecta a adultos y posee similitud epidemiológica al estar relacionado con el consumo de agua y pescado contaminado. En estos brotes los pacientes afectados presentan anticuerpos frente ambos virus, Norwalk y Calicivirus.

Los anticuerpos séricos quizá puedan proteger frente a la enfermedad.

Diagnóstico virológico

La detección de partículas virales en heces mediante ME o IME han constituido los únicos métodos diagnósticos hasta el reciente desarrollo de técnicas inmunológicas, como RIA y EIA, que se han usado para detectar antígeno y anticuerpos frente a Calicivirus. Estas técnicas aún no se encuentran disponibles comercialmente.

ASTROVIRUS

Generalidades

Son virus desnudos, ARN de cadena sencilla, simetría icosaédrica, de 27-32 nm de diámetro. En la superficie externa presentan configuraciones características en forma de estrella de cinco o seis puntas, visibles al microscopio electrónico. No está clara su clasificación. Se conocen 5 serotipos humanos y todos pueden ser cultivados en líneas celulares tratadas con tripsina.

La enfermedad astroviral es más frecuente en niños menores de 7 años y semejante a la enfermedad rotaviral aunque menos severa. Se produce una diarrea acuosa prominente con un período de incubación de 1 a 3 días. Se han informado en brotes en residencias de ancianos así como en heces de niños sanos.

Los anticuerpos frente al virus se encuentran en el 60-80% de la población mayor de 6 años, la capacidad protectora es desconocida.

Diagnóstico virológico

Hasta hace poco, la ME e IME han sido la única herramienta diagnóstica. Recientemente, con el aislamiento de Astrovirus humanos en cultivo celular, se han desarrollado técnicas diagnósticas tanto inmunológicas como de biología molecular. Aún no se dispone de inmunoensayos estandarizados para el diagnóstico.

VIRUS PEQUEÑOS SIN RASGOS DISTINTIVOS ASOCIADOS CON GASTROENTERITIS

Otros grupos de virus diferentes a los anteriores son conocidos como productores de diarrea en animales y asociados a gastroenteritis humanas, pero su relación con la producción de enfermedad aún no está clara y su importancia médica queda por determinar. La categoría de virus pequeños incluye agentes supuestamente asociados con gastroenteritis. Estos virus

son más pequeños (20-26 nm) y no poseen ninguna estructura característica en su superficie. Entre ellos se encuentran los virus Ditchling, Wollan, Cockle y Paramatta. Todos se han encontrado en heces de pacientes con gastroenteritis epidémica. Se diferencian de las tres categorías previamente mencionadas en que no se ha establecido una relación clara con la producción de gastroenteritis.

TRATAMIENTO DE LAS GASTROENTERITIS VIRALES

El tratamiento de todas las enteritis virales sigue siendo sintomático. La reposición de líquidos y electrolitos, preferiblemente con el uso de soluciones de rehidratación oral, es efectiva. La terapia en niños con calostro o gammaglobulina permanece experimental. En los últimos años se han producido grandes progresos en el desarrollo de vacunas frente a ciertos virus productores de diarrea (ej. Rotavirus).

IV. INFECCIONES GASTROINTESTINALES PARASITARIAS

Generalidades y clasificación general

Las parasitosis humanas representan una causa frecuente de patología entérica. Estos procesos afectan de manera localizada al tubo digestivo, originando cuadros diarreicos y provocando en ocasiones anomalías en la absorción de alimentos. Existen numerosos parásitos capaces de producir cuadros entéricos. A continuación se expone una clasificación resumida de agentes parasitarios implicados en infecciones gastrointestinales:

PROTOZOOS

Sarcocystis

Sarcodina (Amebas como *Entamoeba histolytica*)

Mastigophora (Flagelados como *Giardia*)

Apicomplexa (Coccidios como *Isoospora* sp, *Sarcocystis* sp. y *Cryptosporidium* sp)

Ciliophora (Ciliados como *Balantidium coli*)

HELMINTOS

Nematodos (*Trichuris trichura*, *Enterobius vermicularis*, *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus* y *Strongyloides stercoralis*)

Trematodos (*Fasciolopsis buski*)

Cestodos (*Taenia saginata* y *Taenia solium*)

Los protozoos constituyen el grupo de parásitos más a menudo asociado con diarreas. Dentro de este grupo destacan los

rizópodos con *Entamoeba* como género más representativo y *E. histolytica* como la especie más habitual. *E. histolytica* es un organismo implicado en el síndrome de diarrea del viajero (antecedentes de viajes a zonas endémicas) y constituye el agente etiológico de la disentería amebiana. Otras especies de *Entamoeba* como *E. coli* no tienen significación patógena y su detección en heces únicamente indica una contaminación de origen fecal-oral. Lo mismo ocurre con las especies del género *Endolimax* cuya presencia en muestras fecales carece de interés clínico.

Blastocystis hominis es un protozoo anaerobio estricto, que se encuentra con cierta frecuencia en heces de personas sanas y ha sido considerado clásicamente un parásito no patógeno; sin embargo, debe ser valorado ante cuadros diarreicos en los que se excluye la infección por otros microorganismos.

Entre los flagelados intestinales sólo *Giardia lamblia* y *Pentatrichomonas hominis* parecen tener significación patógena. *G. lamblia* afecta preferentemente a niños. Los quistes de este protozoo pueden hallarse en heces formes o incluso duras y desempeñan un papel diseminador entre los convivientes de los portadores. *P. hominis* no muestra fase quística y sus trofozoitos se destruyen fácilmente por la acción del jugo gástrico, por ello presenta escasa difusión en humanos.

Balantidium coli es un protozoo grande y ciliado que penetra en la mucosa del colon y se replica en la submucosa. Generalmente origina infecciones asintomáticas, no obstante puede ser responsable de cuadros gastrointestinales que varían de diarrea acuosa a colitis de tipo disentérico.

Determinados parásitos, no excesivamente agresivos para personas sin factores de riesgo, como ciertos coccidios y microsporidios pueden afectar a pacientes inmunocomprometidos dando lugar a cuadros diarreicos crónicos y severos muy difíciles de combatir. Los microorganismos causantes de coccidiosis entéricas incluyen *Isospora sp.*, *Sarcocystis sp.* y *Cryptosporidium sp.* *Isospora belli* se presenta con relativa frecuencia a sujetos con alteraciones inmunológicas (en especial SIDA). La infección se contrae a través de agua y alimentos contaminados con quistes maduros. Los ooquistes eliminados en heces maduran fuera del tracto intestinal. *Sarcocystis sp.* origina una coccidiosis zoonótica que se produce al ingerir carne de cerdo o bovino con bradizoítos, que

evolucionan en el intestino delgado a esporoquistes con esporozoítos. *Cryptosporidium parvum* es una causa muy frecuente de diarrea crónica en enfermos con SIDA. En estos pacientes puede generar un cuadro diarreico severo, caracterizado por gran pérdida hídrica y marcada reducción en peso corporal, que es difícil de tratar. Al igual que las infecciones por *Cryptosporidium*, la microsporidiosis intestinal por *Enterocytosoon bienusi* afecta con más frecuencia a pacientes con SIDA, produciendo también en este caso cuadros crónicos importantes. Recientemente se han detectado casos de diarrea en enfermos VIH originados por otros protozoos del tipo *Cyclospora*.

Otras parasitaciones intestinales incluyen las causadas por nematodos como *Trichuris trichiura*, *Enterobius vermicularis*, *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americano* y *Strongyloides stercoralis* y cestodos como *Taenia saginata* (tenia de bovinos) y *Taenia solium* (tenia del cerdo). La anisakiasis es una enfermedad causada por un nematodo (*Anisakis*) que se contrae por la ingestión de las larvas presentes en pescados crudos y cuya sintomatología se caracteriza por la aparición de dolor abdominal, náuseas, vómitos y diarrea. Este parásito puede enclavarse en la mucosa gástrica y producir gastritis y hemorragias ocultas en heces. Algunos nematodos tisulares como *Trichinella spiralis* pueden producir cuadros diarreicos de duración e intensidad variable (según grado de parasitación) como uno de los primeros síntomas de la enfermedad (triquinosis).

En general el diagnóstico de las parasitosis intestinales se sustenta en los estudios coproparasitológicos. Estos estudios permiten detectar tanto la presencia de protozoos (mediante la observación de formas vegetativas y/o quísticas) como de helmintos (investigación de larvas y/o huevos).

Estudios coproparasitológicos. Normas generales

Deberá ser especialista quien informe al médico general e instruya al paciente sobre algunas normas generales referentes a la recogida de muestras. Estas normas deben incluir instrucciones acerca de las pautas de alimentación y toma de medicamentos previos al estudio, así como el volumen y número de muestras fecales requeridas.

Antes de iniciar una investigación parasitológica es necesario tener en cuenta

los datos clínico-epidemiológicos que en forma resumida deberán acompañar a la solicitud. El conocimiento de estos datos permitirá ampliar o restringir el abanico de posibilidades diagnósticas y orientar las pautas de la investigación.

Obtención y conservación de las muestras

Hasta su recepción en el Laboratorio las muestras deben ser conservadas adecuadamente. Si el transporte se demora puede ser conveniente mantener las heces en nevera o añadir alguna sustancia que impida la acción bacteriana y conserve los parásitos en condiciones idóneas para lograr una correcta identificación. Se puede utilizar formol diluido en agua (al 5 o al 10% según consistencia fecal) o merthiolatoiodoformalina (MIF).

Las formas vegetativas de rizópodos se destruyen fácilmente por pequeñas variaciones en los caracteres organolépticos de las heces (disminución de la temperatura, desecación, cambio de pH, etc). La utilización del fijador APV (método de Broke y Goldman), si bien no conserva la viabilidad del parásito, mantiene las formas vegetativas permitiendo estudios posteriores realizados por técnicas tintoriales. Se debe colocar una porción de la muestra fecal en un portaobjetos y mezclarla con una gota de APV. El frotis se deja secar durante una noche. La muestra así preparada puede teñirse hasta varios meses más tarde.

La cápsula de Enterotest se utiliza para investigar la presencia de formas vegetativas de *Giardia* en duodeno. El paciente debe tragar una cápsula de gelatina fijada a un hilo de nylon suficientemente largo como para llegar hasta el duodeno. Los trofozoítos se fijan al hilo y son extraídos al sacarlo.

Examen macroscópico

Las muestras fecales deberán ser analizadas lo más rápidamente posible, realizando primero una inspección macroscópica para considerar diversas características como el olor, color y consistencia. Se inspeccionará en busca de moco, sangre o pus, y se determinará su distribución. Se valorará la velocidad del tránsito intestinal.

Teniendo en cuenta la consistencia de las heces se podrá suponer la presencia de determinados parásitos y su estado evolutivo. Una masa fecal consistente puede sugerir parasitaciones por helmintos y formas quísticas de protozoos. Unas

heces diarreicas o pastosas orientarán hacia la presencia de formas protozoarias (vegetativas y quísticas, o formas vegetativas exclusivamente) y de algunos nematodos (strongyloides). Las heces líquidas o muy blandas pueden hacer sospechar parasitaciones por protozoos como *E. histolytica*. En enfermos inmunocomprometidos además se deberá pensar en giardiasis, coccidiosis, microsporidiasis y ciclosporidiosis.

En ocasiones (helminCIAS) el estudio macroscópico de las heces puede ser suficiente para detectar al parásito (ej. gusano adulto de *Ascaris lumbricoides*) o restos parasitarios (proglótides de tenias).

Técnicas de concentración parasitaria

En muchas ocasiones la densidad de parásitos en las muestras de heces es reducida dando lugar a la aparición de resultados falsos negativos al examen microscópico. Por este motivo es conveniente recurrir a técnicas de concentración cuando se sospecha una escasa parasitación o se pretende un enriquecimiento parasitario de la muestra.

El método de concentración por sedimentación consiste en homogeneizar las heces en una solución de formalina. Esta emulsión se filtra y se le añade éter. A continuación se centrifuga de forma que los quistes de protozoos y los huevos de helmintos sedimentan en el fondo del tubo.

La técnica de concentración por flotación se basa en una diferencia de densidades entre el parásito y la solución en la que se han emulsionado las heces (se utilizan soluciones de alta densidad como sulfato de zinc al 33% en agua destilada). En este caso los quistes quedan en el sobrenadante. El inconveniente de esta técnica radica en que los quistes protozoarios pueden experimentar alteraciones debido tanto a la aparición de corrientes osmóticas a través de la membrana quística, como a la agresión que puede producir en la cubierta alguna de las sustancias empleadas.

Estudio parasitológico

Cada parásito o grupo de parásitos (según el estadio en que se encuentren) puede requerir una técnica diagnóstica determinada. Los métodos empleados con mas frecuencia se basan en la observación microscópica, bien por el examen en fresco de la muestra o mediante técnicas tintoriales como coloración tricrómica de Gomori,

hematoxina férrica, giemsa o la tinción modificada de Field's.

El examen microscópico directo en fresco resulta un procedimiento sencillo. Se realiza homogeneizando la muestra fecal en un portaobjetos con agua destilada, suero salino, solución de iodo-lugol o con azul de metileno tamponado a pH ácido. A continuación se coloca un cubreobjetos y se procede a la observación por microscopía óptica. Se recomienda seleccionar aquellas partes de la muestra que presenten restos de sangre, moco o pus. No obstante, en las protozoosis por rizópodos, flagelados y *Apicomplexa* se pueden encontrar los parásitos en cualquier punto de la muestra fecal ya que su distribución suele ser uniforme.

El examen microscópico en fresco debe ser exhaustivo, comenzando por un ángulo del cubreobjetos, desplazando el campo del microscopio hasta el otro extremo y continuando el movimiento en zig-zag hasta completar la observación de toda la superficie. Mediante el examen microscópico directo es posible observar formas vegetativas y/o quísticas de algunos protozoos, así como huevos de helmintos y células del huésped (hematíes y leucocitos). El examen en fresco con solución de iodo-lugol pone de manifiesto gránulos de glucógeno y los núcleos de los quistes. La solución de azul de metileno colorea los trofozoítos de rizópodos pero no los quistes, ni las formas vegetativas o quísticas de los flagelados.

Debe investigarse la presencia de formas amebianas vegetativas observando su movimiento, forma y proyección de los pseudópodos así como la inclusión de glóbulos rojos dentro del protoplasma. En las fases quísticas el examen se centrará en características particulares como el número de núcleos, posición del nucléolo y el estudio de formas cromidiales (*E. histolytica* presenta 1-4 núcleos con un nucléolo en posición central y un patrón cromático fino en la periferia). En el caso de protozoos ciliados como *Balantidium coli* se observará la forma vegetativa con sus típicos cilios y citostoma. Las formas quísticas de este parásito suelen ser más difíciles de identificar. El diagnóstico microscópico de organismos flagelados como *Giardia* resulta sencillo mediante la detección de los quistes característicos. La presencia de trofozoítos flagelados en heces suele ser menos frecuente.

Una técnica parasitológica complementaria es la medición con microscopio. Esta

técnica puede ser imprescindible para lograr la identificación correcta de ciertos parásitos según su tamaño en micrómetros. En este procedimiento microscópico se utiliza una regla (micrómetro ocular) que se superpone sobre la imagen que se desea medir.

En ocasiones (*Cryptosporidium* sp., *Isospora* sp.) se recurre a tinciones específicas como la tinción de Ziehl-Neelsen modificada o el método de fenol-auramina. En la fase aguda de la infección por *Isospora belli* el diagnóstico es difícil. No se suelen detectar quistes, sin embargo se pueden observar cristales de Charcot-Leyden en heces y suele haber eosinofilia en sangre. En los últimos años se han introducido diferentes métodos de inmunofluorescencia aplicables al diagnóstico de ciertos protozoos como *Giardia* o *Cryptosporidium*. Recientemente se han desarrollado sistemas de ELISA que permiten detectar la presencia de estos parásitos en heces sin necesidad de visualizar los quistes microscópicamente.

En el caso de la microsporidiosis (*Enterocytosoon bienusi*) el diagnóstico se realiza por microscopía óptica o electrónica en biopsias de intestino delgado.

El diagnóstico definitivo de las infecciones por nematodos reside habitualmente en la detección de huevos o larvas de los parásitos en heces. La anisakiasis se detecta generalmente por endoscopia.

Dado que los huevos de *Taenia saginata* y *Taenia solium* son similares, el diagnóstico a nivel de especie de estos cestodos se obtiene mediante el examen de las proglótides eliminadas en las heces (las proglótides de *T. saginata* muestran un útero más ramificado que las de *T. solium*).

V. PAUTAS DE ACTUACION

Orientaciones diagnósticas ante una sospecha de toxi-infección bacteriana de origen alimentario

El análisis de los síntomas clínicos también sirve de orientación para decidir los patógenos que se deben buscar:

Las bacterias invasivas como: *Salmonella* Sr, *Campylobacter* sp, *Shigella* sp, *Yersinia enterocolitica* y *Escherichia coli* enteroinvasivo, producen diarrea con moco y la sangre, fuerte dolor cólico o abdominal y fiebre.

Las bacterias toxigénicas como: *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Baci ilus cereus*, *Clostridium perfringens* y *Escherichia coli* enterotoxigénico, producen una diarrea sin

sangre, con deposiciones muy abundantes. frecuentes y líquidas, poco dolor abdominal y ausencia de fiebre.

| Microorganismo | Tiempo inicial | Fuente de infección síntomas |
|--------------------------------|----------------|---|
| <i>Salmonella sp</i> | 8 - 72 horas | Huevo y derivados, carne de ave y cerdo |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 2 - 6 horas | Derivados de pastelería y lácteos |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 8 - 20 horas | Productos cárnicos |
| <i>Escherichia coli</i> (ECEH) | 10 - 48 horas | Hamburguesas |
| <i>Shigella sp</i> | 24 - 72 horas | Agua - Personas |
| <i>Bacillus cereus</i> * a) | 1 - 6 horas | Arroz, vegetales |
| <i>Bacillus cereus</i> * b) | 8 - 16 horas | Vegetales |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | 2 - 48 horas | Productos del mar |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> | 16 - 48 horas | Leche |

* Se puede presentar de dos formas diferentes: producción de la toxina en el alimento (a) o infección con producción de toxina en el intestino del enfermo (b)

Indicación de estudio de virus

Los principales procesos en los que se debe considerar la participación vírica son:

Diarrea epidémica en recién nacidos

Son causas potenciales los virus Echo, Coxsackie, Adenovirus y Rotavirus. La significación del aislamiento de Enterovirus y Adenovirus es aún conflictiva.

Diarrea infantil

Se produce en el segundo año de vida, el mayor porcentaje se da entre los 6 y 24 meses de edad y la causa principal son los Rotavirus.

Diarrea no inflamatoria en adultos

En países templados, ante diarrea aguda no inflamatoria hay que pensar que puede estar producida por virus tipo Norwalk.

Síndrome agudo de náuseas y vómitos

En países de clima templado, durante los meses fríos es frecuente el síndrome agudo de náuseas y vómitos siendo el principal responsable el virus Norwalk y los virus relacionados (Norwalk-like).

Brotos de intoxicación alimentaria

Ante la aparición de brotes relacionados con el consumo de marisco, pescado mal cocinado, ensaladas y agua hay que tener en cuenta los virus Norwalk y virus relacionados.

Diarrea del viajero

Fundamentalmente se ha descrito infecciones por Rotavirus y virus Norwalk asociadas, en muchos casos, a otros

patógenos tanto bacterianos como parasitarios.

Brotos epidémicos en instituciones

Se han informado numerosos brotes asociados a virus en guarderías, colegios y hospitales. Los Rotavirus son más comunes en lactantes y niños menores de dos años. También se han descrito Adenovirus y otros agentes virales.

Huéspedes inmunocomprometidos

En este grupo de pacientes debe considerarse dentro de la etiología de los procesos diarreicos, una amplia variedad de agentes virales como Citomegalovirus, virus Herpes simplex, Enterovirus y Rotavirus.

Indicación de estudio parasitológico

Como norma general deben realizarse exámenes parasitológicos en pacientes con diarrea prolongada (mas de 4 días de duración) en los que no se detecten otros enteropatógenos.

Brotos de diarrea en colectivos como guarderías. (*Giardia lamblia*, *Cryptosporidium sp.*).

Sujetos inmunocomprometidos. (*Cryptosporidium sp.*, *Isoospora sp.*, *Enterozoozoon bienusi*, *Giardia lamblia*).

Personas procedentes de países con parasitosis endémicas. (*Entamoeba histolytica*, helmintiasis).

En casos de protozoosis, en familiares y contactos próximos al paciente (*Giardia glambia*).

Antecedentes de contacto con animales (*Isoospora sp.*, *Sarcocystis sp.*, *Cryptosporidium sp.*, helmintiasis).

En gastritis de aparición brusca y ante antecedentes compatibles se debe pensar en la posibilidad de anisakiasis.

Diarrea del viajero

El término diarrea del viajero se aplica a la enfermedad entérica adquirida por una persona cuando viaja a un país en vías de desarrollo. También incluye aquellos procesos que se producen entre los 7-10 días después de haber regresado de uno de esos viajes.

La etiología de la diarrea del viajero suele ser múltiple y además no es infrecuente

encontrar varios microorganismos en un mismo paciente. La proporción relativa entre los diferentes microorganismos implicados en este proceso varía dependiendo de la población estudiada, estación del año y zona geográfica visitada. A pesar de ello la mayoría de estos cuadros están causados por bacterias y de forma preferente por las cepas enterotoxigénicas de *E. coli*; existiendo cerca de un 20-40% de casos en los que no puede detectarse ningún microorganismo.

| MICROORGANISMOS NORMALMENTE IMPLICADOS EN LA DIARREA DEL VIAJERO (%) | | | | | |
|--|-------|---------------|---------------|--------|--------|
| | Asia | Oriente Medio | Latinoamérica | Africa | Global |
| ECET | 20-34 | 57 | 40 | 31-75 | 36 |
| ECEA | - | - | 5 | 33 | 5 |
| ECEI | 3 | - | 6 | 2 | 3 |
| <i>Salmonella sp</i> | 6-18 | 2-7 | 7 | 2-25 | 1 |
| <i>Shigella sp</i> | 2-17 | 4-20 | 15 | 4-15 | 4 |
| <i>Campylobacter sp</i> | 5-41 | 2 | 3 | 1-28 | 3 |
| <i>Aeromonas sp</i> | 1 | - | 2 | 1-8 | 2 |
| <i>Vibrio no O1</i> | 1-16 | - | 2 | <1 | 2 |
| Rotavirus | - | 6 | 10 | 5 | 2 |
| <i>E. histolytica</i> | - | - | <1 | - | 2 |
| <i>Giardia</i> | 1 | - | 4 | - | 2 |
| Desconocido | 42 | - | 15 | 38-40 | 39 |

ECET= *E. coli* enterotoxigénico; ECEA= *E. coli* enteroadherente; ECEI= *E. coli* enteroinvasivo.

Como consecuencia de ello frente a un paciente con un proceso diarreico y el antecedente epidemiológico de un viaje a un país de riesgo, se recomienda realizar una búsqueda sistemática de todos los enteropatógenos reconocidos, incluyendo las cepas enterotoxigénicas y enteropatógenas de *E.coli*. Así mismo, debe realizarse un estudio parasitológico completo de las heces y puede ser recomendable la detección de agentes virales.

Diarrea en el paciente inmunodeprimido Paciente infectado por VIH

La diarrea es una complicación relativamente frecuente en los pacientes infectados por el VIH, presentando una incidencia del 30-90%. En este grupo de pacientes los procesos diarreicos son generalmente de tipo crónico con una duración superior a un mes. En estos casos se puede llegar a establecer la etiología

infeciosa en el 75-85% de pacientes. Los microorganismos más frecuentemente implicados en esta entidad son los parásitos preferentemente *Cryptosporidium sp.* y *Microsporidium sp.* unos porcentajes de participación etiológica situados entre el 15-30% y el 10-25% respectivamente. También *I. belli* debe ser considerado como agente causante, al igual que otros enteroparásitos (*Entamoeba sp.*, *Giardia sp.*) sin embargo, la tasa de participación de estos protozoos acostumbra a ser bastante menor (0.5-5%). Además de los parásitos, los enteropatógenos clásicos también son responsables de un porcentaje elevado de diarreas clínicas (15-25%). En este grupo deben incluirse *Salmonella sp.*, *Campylobacter sp.*, *Aeromonas sp.*, *Shigella sp.* y *C. difficile*. Su participación relativa en esta entidad es variable y depende del estadio clínico del enfermo y del grupo de riesgo al que pertenezca. También es preciso considerar a *M. avium* como posible

responsable de procesos diarreicos en este tipo de pacientes. La frecuencia de enteritis por *M. avium* en pacientes con SIDA parece oscilar entre el 5-23%; aunque en algunos casos su detección en heces puede ser consecuencia de una infección diseminada. La participación de los virus en las diarreas crónicas de estos pacientes no está establecido de una forma definitiva. Los estudios controlados parecen demostrar que la incidencia de infecciones por Rotavirus y Adenovirus entéricos es similar a la que se produce en personas sanas. Por lo tanto no parece recomendable en estos momentos realizar una búsqueda rutinaria de estos agentes en este grupo de pacientes. No puede decirse lo mismo de la infección por CMV; este virus puede encontrarse en cerca del 90% de los pacientes infectados por el VIH. Aunque la infección afecta a todo el tracto digestivo, la principal manifestación clínica es una colitis y/o proctitis, asociada normalmente a un proceso diarreico de tipo hemorrágico. En estos casos el cultivo de las biopsias de la mucosa rectal permite demostrar su participación etiológica entre el 5-45% de los casos estudiados.

Debe tenerse presente que los pacientes infectados por el VIH desarrollan en muchas ocasiones (15-25%) procesos diarreicos crónicos de causa no infecciosa. Esta entidad, designada como enteropatía del SIDA, forma parte de la sintomatología clínica evolutiva de estos pacientes y se diagnostica generalmente por exclusión de la etiología microbiana.

El diagnóstico etiológico de la diarrea crónica en los enfermos infectados por el VIH es un proceso bastante complejo y debería realizarse de una forma secuencial. El primer paso consistiría en (a) la realización de 3 coprocultivos convencionales en los que se incluirá la búsqueda de todos los enteropatógenos reconocidos, (b) detección de toxina de *C. difficile* en heces y (c) estudio parasitológico completo. Además si el paciente presenta fiebre deberían tomarse hemocultivos para descartar bacteriemias por enteropatógenos, micobacterias y/o CMV. En una segunda fase debería realizarse una colonoscopia y gastroscopia con toma de muestras y cultivo para micobacterias y virus. En general, siguiendo esta secuencia diagnóstica se consigue establecer la etiología infecciosa del proceso diarreico con un elevado porcentaje de probabilidad.

Paciente no infectado por VIH

Se incluirán en este grupo aquellos pacientes inmunodeprimidos a consecuencia de su propia patología (neoplasias) o de tratamientos inmunosupresores (pacientes trasplantados). En estos pacientes además de las bacterias enteropatógenas convencionales pueden observarse infecciones intestinales por CMV (colitis) y hongos (*Candida sp.*) Además de la búsqueda rutinaria de patógenos debería considerarse la posibilidad de las diarreas asociadas al consumo de antibióticos y citostáticos (*C. difficile* y *C. perfringens*) y las sobreinfecciones intestinales por microorganismos oportunistas (*Pseudomonas sp.*). El microbiólogo debe valorar conjuntamente con el clínico el significado de estos aislamientos y la necesidad de un posible control evolutivo de la flora intestinal.

VI. BIBLIOGRAFIA

1. Lima A, Lima N. Epidemiology, therapy, and prevention of infection with *Sigella* organisms and *Clostridium difficile*. *Curr. Op. Microbiol. Infect. Dis.* 1993; 6: 63-71
2. Sansonetti PT. *Escherichia coli*, *Shigella*, antibiotic-associated diarrhea, and prevention and treatment of gastroenteritis. *Curr. Op. Microbiol Infect Dis* 1992; 5: 66-73.
3. Farmer J.T., Kelly. *Enterobacteriaceae*. Balows A, Hausler W J, Herrman K, Isenberg H D, Sliadomy HJ. *Manual of Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology 1991; 360-383.
4. Nachamkin I. *Campylobacter* Infections. *Curr. Op. Microbiol. Infect. Dis.* 1993; 6:72-76.
5. Lopez-Brea, M. *Helicobacter pylori*. *Enf. Inf. Microbiol. Clin.* 1992; 10:360-365.
Drobniewski FA. *Bacillus cereus* and related species. *Clin. Microbiol. Rev.* 1993; 6:324-338.
6. Janda JM. Recent advances in the study of the taxonomy, pathogenicity and infectious syndromes associated with the genus *Acro-monas*. *Olin. Microbiol. Rev.* 1991; 4:397-410.

7. Knoop FC, Owens M, Crocker C. Clostridium difficile: clinical disease and diagnosis. Clin. Microbiol. Rev. 1993; 6:251-265.
8. Sherlock CH, Brandt CJ, Middlcion PJ, Smith JA. Laboratory Diagnosis of Viral Infections Producing Enteritis. In CUMITECH 26. American Society for Microbio-logy. Washington DC. 1989.
9. Blacklow NR, Greenberg HB. Viral Gastroenteritis. N. Eng. J. Med. 1991; 25: 252- 264.
10. Herdberg CW, Osterholm MT. Outbreaks of Food-Borne and Waterborne Viral Gastroenteritis. Clin. Microbiol. Rev. 1993; 6: 199-210.
11. Weber R, Bryan RT, Owen RL, Wilcox CM, Gorelkin L, Vivesvara GS, et al. Improved light-microscopical detection of microsporidis spores in stool and duodenal aspirates. N. Eng. J.: ed. 1992; 326: 161-166.
12. Beauvais B, Sarfati C, Molina JM, Lesourd A, Lariviere M, Derouin F. Comparative evaluation of five diagnostic methods for demonstrating microsporidia in stool and intestinal biopsy specimens. Ann. Trop. Med. Parasitol. 1993; 87: 99-102.
13. Ortega YR, Sterling CR, Gilman RH, Cama VA, Diaz F. Cyclospora species. A new protozoan pathogen of humans. N. Eng. J. Med. 1993; 328: 1308-1312.