

## Patógenos entéricos bacterianos

El agua, los alimentos y los objetos (fomites) pueden contaminarse por diferentes vías. Las heces de animales y humanos cuando no son eliminadas correctamente contaminan el agua que se utiliza para consumo y para el lavado de los alimentos. A su vez los alimentos pueden contaminarse por bacterias presentes en individuos enfermos o portadores. Por ejemplo individuos que tienen colonizada la vesícula biliar con *S. typhi* y la excretan por materia fecal; individuos que tienen colonizadas las fosas nasales y tejidos adyacentes con *S. aureus*. Por último, los alimentos pueden contaminarse con bacterias o esporas presentes en el ambiente.

### Principales patógenos bacterianos.

ECET (*E. coli* enterotoxigénica) causa la diarrea del viajero, que es una diarrea acusosa, tanto en adultos como en niños. El principal mecanismo de patogénesis es la acción de una toxina similar a la colérica.

ECEP (*E. coli* enteropatógena) causa diarrea infantil. Borra las microvellosidades por su capacidad de adherirse fuertemente al enterocito. El receptor intestinal involucrado en esta patología se pierde con la edad, por eso la infección es más frecuente en niños.

ECEH (*E. coli* enterohemorrágica) Causa diarreas hemorrágicas, tiene factores de adherencia como ECEP (el receptor es el mismo que en el caso anterior, por eso esta infección también es más frecuente en niños y adolescentes). Produce una toxina similar a la de Shiga, responsable del síndrome urémico hemolítico. No es invasiva, la sangre en materia fecal se debe a la acción de la toxina de Shiga. Se asocia al consumo de carne picada mal cocida, leche y jugos de fruta no pasteurizados.

ECEI (*E. coli* enteroinvasiva). Es el único virotipo de *E. coli* que invade la mucosa. Produce disentería, similar a la shigelosis.

*Salmonella enteritidis*, es invasiva causa enterocolitis y se asocia al consumo de huevos crudos y leche no pasteurizada.

*Salmonella typhi*, , produce una infección sistémica, la fiebre tifoidea. El reservorio es únicamente humano, por lo que la infección se produce al ingerir agua o alimentos contaminados con heces de humanos enfermos.

*Shigella* spp , Es invasivo, produce disentería bacilar

*Yersinia* spp. Es invasivo, produce enterocolitis, linfadenitis, ileítis terminal. Se asocia al consumo de carne porcina mal cocida.

*Campylobacter jejuni*. Es también un bacilo gramnegativo pero NO pertenece a la familia de las enterobacterias. Es microaerófilico, es decir que para crecer necesita un ambiente aeróbico pero con menor concentración de O<sub>2</sub> y mayor concentración de CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>. Además la temperatura de desarrollo óptima son los 42 °C. Esto es importante ya que si las muestras para coprocultivo de un paciente que está infectado con *Campylobacter* se cultivan en las condiciones habituales no habrá desarrollo del microorganismo.

Es un patógeno invasivo, produce diarreas sanguinolentas, el paciente puede sufrir fiebre y dolores abdominales que se confunden frecuentemente con los de apendicitis. Suele causar linfadenitis. Las infecciones por *Campylobacter* se asocian al consumo de aguas, leche y huevos contaminados. Las infecciones por *Campylobacter jejuni* pueden causar secuelas como el Síndrome de Guillain-Barré (SGB) y artritis reactiva.

*Listeria monocytogenes* puede producir infecciones sistémicas, especialmente en individuos inmunodeficientes y en embarazadas, se encuentra contaminando alimentos lácteos y embutidos como salchichas..

Las infecciones entéricas se producen al ingerir bacterias vivas. El pH del estómago reduce significativamente el inóculo ingerido, salvo que la bacteria sea resistente a la acidez, como *Shigella* spp. y ECEH. Las bacterias que sobreviven el paso por el estómago llegan al intestino donde se adhieren. La adherencia es en algunos casos el único mecanismo de virulencia (ECEP), otros patógenos luego de adherirse producen toxinas (ECET, *V. cholerae*). Otras bacterias no sólo se adhieren sino que invaden el epitelio y generan diarreas sanguinolentas (*Salmonella enteritidis*, *Campylobacter* spp., *Shigella* spp., ECEI). Por último, bacterias como *Salmonella typhi*, *S. paratyphi*, *Listeria monocytogenes* no sólo se adhieren e invaden el epitelio sino que pasan a circulación y producen infecciones sistémicas. NOTA: *Listeria monocytogenes* causa infección sistémica en pacientes inmunodeprimidos (incluidos los ancianos y las embarazadas). La mayoría de las bacterias mencionadas infectan el intestino delgado, sin embargo otras como *Shigella* spp, y ECEH infectan principalmente el colon. Algunos factores favorecen la infección intestinal. La disminución de la acidez estomacal, por acción de antiácidos o por desnutrición resulta en

una menor inactivación de las bacterias ingeridas. Por lo tanto un número menor de bacterias pueden causar la enfermedad (disminuye la dosis infectante). La disminución del peristaltismo favorece la adherencia del patógeno. La desnutrición y cualquier estado de inmunodeficiencia favorecen la infección intestinal porque disminuye los niveles de IgA, que participa de la exclusión inmune. Cuando se altera la flora normal del intestino por uso de antibióticos o por efecto de las radiaciones se favorece el establecimiento de infecciones intestinales ya sea por microorganismos endógenos (de la propia flora) o exógenos.

**DIAGNÓSTICO DE LAS DIARREAS.** El paciente adulto consulta menos frecuentemente que el pediátrico en casos de diarrea. Cuando hay presencia de sangre en materia fecal o cuando los síntomas son persistentes.

**ANAMNESIS:** (Interrogatorio) Acerca del comienzo de la sintomatología, frecuencia de las deposiciones, aspecto de las mismas (acuosas, sanguinolentas, etc.), lugar de residencia del paciente (disponibilidad o no de agua potable y cloacas), uso reciente de antibióticos, enfermedades subyacentes, viajes recientes, contacto con animales rurales, ingestión de alimentos marinos, etc. **EXAMEN FÍSICO :** Puede revelar, fiebre, signos de toxicidad o deshidratación, dolor abdominal, etc. En el paciente pediátrico es de particular importancia la identificación de signos de deshidratación grave que incluyen letargo, hipotensión postural, taquicardia, fontanelas deprimidas, disminución de la turgencia cutánea, enoftalmia (hundimiento de los ojos), sequedad de mucosas, etc. Estos datos le permitirán iniciar un tratamiento de **REHIDRATACIÓN** que podrá ser oral o parenteral según la gravedad del caso.

Los estudios microbiológicos se realizan sobre la muestra de materia fecal. La muestra ideal es la materia fecal emitida espontáneamente recogida en frasco estéril con tapa a rosca. Una muestra válida es también el hisopado rectal. El hisopado anal NO es una muestra válida para el aislamiento de bacterias. Principalmente los estudios microbiológicos abarcan **MICROSCOPIA Y CULTIVO**. También puede analizarse la presencia de toxinas en el **FILTRADO** de la muestra, por ejemplo en la infección por *Clostridium difficile*, o realizar **ELISA** para descartar la infección por Rotavirus. El examen microscópico de las heces se realiza por lo general sin tinción, lo que se llama un examen

en fresco. La tinción de Gram puede realizarse pero no es de gran utilidad en este caso. El análisis por microscopía permite visualizar parásitos, huevos de parásitos, leucocitos y hematíes.

**COPROCULTIVO:** Las muestras deben procesarse en forma inmediata. Si no se puede sembrar dentro de la hora de recolectada se aconseja mezclarla con medio de transporte para retardar el crecimiento de la flora acompañante. Existen casos en los cuales el patógeno se encuentra en baja proporción con respecto a la flora normal. Se realizan entonces cultivos de la muestra en medios de enriquecimiento que permiten que el patógeno se reproduzca con mayor velocidad que la flora acompañante. Ej.: caldo selenito para cultivo de *Salmonella*. La siembra de la muestra de materia fecal se realiza en medios selectivos<sup>1</sup> que inhiben el desarrollo de la flora normal del intestino, favoreciendo el crecimiento de los patógenos entéricos. Una vez aislado el microorganismo se prosigue la identificación mediante pruebas bioquímicas y si corresponde se realiza serotipificación utilizando anticuerpos contra antígenos somáticos, flagelares y capsulares (O, H, K respectivamente). Para *Salmonella typhi* se analiza el antígeno capsular Vi.

Las pruebas bioquímicas que pueden realizarse en la identificación de las enterobacterias son muchísimas, ya que se trata de bacterias metabólicamente muy activas. Se determinan por ejemplo los patrones de fermentación de azúcares, la capacidad de utilizar ciertos sustratos como fuente de energía, la presencia de determinadas enzimas, producción de gas, etc.

**El tratamiento de las diarreas infecciosas** se basa principalmente en la reposición de agua y electrolitos. Las sales de rehidratación se administran por lo general por vía oral. En los casos graves o cuando el paciente vomita se usa la vía parenteral. En su mayoría las diarreas agudas son autolimitadas. Sin embargo se recomienda el uso de antibióticos en las infecciones intestinales por microorganismos invasivos por ej. *Shigella* spp., *E. coli* enteroinvasiva (ECEI) y *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* spp. y en el caso de *V. cholerae* para disminuir el tiempo de diseminación del patógeno. En estos casos es necesario determinar la sensibilidad de los microorganismos a los antibióticos mediante

antibiograma. En el caso de infecciones por ECEH el uso de ATB está CONTRAINDICADO porque puede favorecer la aparición del síndrome urémico hemolítico. Una explicación para este fenómeno es que el fago que codifica para la toxina similar a la de Shiga puede pasar de lisogénico a lítico por el estrés que el ATB le produce a la bacteria; de esta forma el fago lítico podría infectar a las cepas de *E.coli* de la flora normal y aumentaría la producción de toxina. Además, la lisis de la bacteria patógena por acción del ATB favorecería la liberación de la toxina en la luz intestinal.

### INFECCIONES SISTÉMICAS por patógenos entéricos.

No todos los patógenos entéricos causan infecciones locales. *S. typhi*, *S. paratyphi* y *Listeria monocytogenes* ingresan por la vía oral pero causan infecciones sistémicas. En estos casos, lógicamente, el diagnóstico se realiza en otro tipo de muestras.

#### **Fiebre tifoidea**

Luego de ser ingerida *S. typhi* al igual que *S. enteritidis* se adhiere y atraviesa la mucosa intestinal principalmente a través de las células M localizadas en el epitelio asociado al folículo. En este proceso de invasión participa el sistema de secreción tipo tres (SSTT). La bacteria inyecta proteínas al citosol de la célula huésped a través de este sistema e induce su propia endocitosis. A diferencia de *S. enteritidis*, *S. typhi* no permanece en la submucosa intestinal sino que es fagocitada por los macrófagos de las placas de Peyer y los ganglios linfáticos mesentéricos (GLM) en donde se multiplica. La capacidad de *S. typhi* para sobrevivir dentro de los fagocitos es esencial para su patogénesis y su posterior diseminación sistémica. Luego, la bacteria causa una bacteriemia transitoria e infecta y se multiplica en hígado, bazo y médula ósea. En estos órganos el crecimiento bacteriano transcurre intracelularmente, muy probablemente dentro de los macrófagos. Cuando la densidad de bacterias alcanza niveles cercanos a las  $10^8$ - $10^9$  unidades formadoras de colonias por órgano, *Salmonella* spp. pasa nuevamente a circulación causando una segunda bacteriemia. La bacteria puede persistir en los GLM, en la médula ósea o en la vesícula biliar y periódicamente regresar a la mucosa intestinal a través del conducto biliar o de los GLM. La vesícula biliar es uno de los sitios mas frecuentes en donde puede persistir la bacteria. A partir de este sitio la bacteria puede ser liberada y excretada con las heces.

El diagnóstico de la fiebre tifoidea puede realizarse por métodos directos, aislando la bacteria de diferentes muestras, las que serán más o menos apropiadas de acuerdo con el tiempo de evolución de la enfermedad. Por ejemplo, en los primeros días luego de la infección, el cultivo de materia fecal posiblemente no revele la infección ya que a diferencia de lo que ocurre en la infección con *Salmonella enteritidis*, *S. typhi* no permanece en la submucosa sino que pasa a circulación. De hecho, en los individuos infectados con *S. typhi*, los síntomas comienzan cuando la infección es sistémica (aprox 14 días luego de la ingestión de la bacteria). En ese momento la bacteria puede aislarse de sangre mediante hemocultivo seriado. La bacteria puede aislarse de materia fecal en forma más eficiente a partir de las dos semanas de comenzados los síntomas de la enfermedad, cuando la bacteria vuelve al intestino (esta vez a través de la vía biliar). Los enfermos pueden eliminar *S. typhi* por orina pero la recuperación de la bacteria por urocultivo es escasa. Existe también una prueba indirecta para el diagnóstico de la fiebre tifoidea, la Prueba de Widal que consiste en evaluar anticuerpos dirigidos contra los antígenos O y H. Puede analizarse la seroconversión (aumento del título x4). En el caso de disponer de solo una muestra puede evaluarse los títulos, son significativos cuando los anticuerpos anti AgO son superiores a 1:160 y en el caso de anticuerpos anti AgH son superiores a 1:320.

Esta prueba tiene diversas desventajas, no es muy sensible ni específica. Existen reacciones cruzadas con anticuerpos dirigidos contra antígenos de otras bacterias (falsos positivos). Los antígenos con que se realiza la prueba están poco estandarizados. Por último, es difícil la interpretación de los resultados de esta prueba en áreas donde la fiebre tifoidea es endémica.

### **Vacunas contra fiebre tifoidea**

La vacuna que se utiliza actualmente es la vacuna oral, compuesta por una mutante atenuada de *S. Typhi* que carece de una enzima (UDP galactosa-epimerasa). Se ingieren 3 dosis (cápsulas) día por medio. No deben administrarse antibióticos durante la administración de la vacuna. No está incluida en el calendario de vacunación obligatorio. Está recomendada para aquellos individuos que se desplacen a zonas endémicas para la enfermedad, a partir de los 5 años de edad. Genera una inmunidad limitada a 3 años.

<sup>1</sup>Los medios selectivos que frecuentemente se usan para el cultivo de materia fecal son: agar MacConkey, Levine, EMB. Los dos primeros contienen sales biliares, EMB contiene el colorante Eosina azul de metileno, cuya función es la inhibición del crecimiento de la microbiota intestinal acompañante, permitiendo el desarrollo de los patógenos entéricos. Además estos medios tienen indicadores de pH, sustancias que cambian de color según la acidez, de esta forma, se puede diferenciar el crecimiento de una bacteria que fermenta un determinado azúcar (que obviamente se encuentra presente en el medio) ya que al fermentar se acidifica el medio y este cambia de color. Los medios selectivos nombrados, contienen lactosa, por eso permiten diferenciar entre microorganismos fermentadores y no fermentadores de lactosa. Todas las Enterobacterias son FERMENTADORAS DE LA GLUCOSA pero ALGUNAS FERMENTAN LACTOSA: *E. coli*, OTRAS NO FERMENTAN LACTOSA: *Salmonella*, *Shigella*. El agar SS (*Salmonella-Shigella*) es un medio aún más selectivo. El aislamiento de algunos patógenos requiere el cultivo de la materia fecal en medios específicos. Ej.: *Vibrio cholerae* en agar TCBS (tiosulfato-citrato-bilis-sucrosa), *Campylobacter* spp en agar Skirrow. Toda muestra de materia fecal se siembra además en medios para propósitos generales como agar sangre (para, por ejemplo, facilitar la búsqueda *Aeromonas spp.*) y agar nutritivo (para verificar la presencia de bacterias formadoras de pigmentos). Ante la sospecha de infección por ECEH, se siembra además una placa de agar MacConkey sorbitol (que en vez de tener lactosa, tiene sorbitol) que permite la detección del serotipo O157:H7, que es incapaz de fermentar este azúcar.