

MICROBIOLOGÍA Y SALUD

*Aida Macías Alvia. MSc.
Leonardo Alfredo Mera Villamar. Md.
Milton René Espinoza Lucas. Md. MSc.
Franklin Antonio Vite Solórzano. MSc.
Patricio Alfredo Vallejo Valdivieso. Md. MSc.
Liliana Mirella Mendoza Mendoza. MSc.
Dolores Mirella Cedeño Holguín. MSc.
María Lucrecia Casanova Intriago. Md.
Fátima René Medina Pinoargote. MSc.
José Manuel Pigüave Reyes. MSc.
María Felicidad Vélez Cuenca. MSc.
Bolívar Augusto Cevallos Jácome. Md.
Sonia Patricia Ubillús Saltos. Ph.D.
Juan Pablo Ipiales Vásconez. Md. MSc.
Shirley Ximena Arteaga Espinoza. Dra.
Cindy Lissette Vivas Arteaga. MSc.
Carlos Antonio Escobar Suárez. Md. MSc.
María Cecibel Vera Marquez. MSc.
María José Terán Bejarano. Md. MSc*

MICROBIOLOGÍA Y SALUD

*Aida Macías Alvia. MSc.
Leonardo Alfredo Mera Villamar. Md.
Milton René Espinoza Lucas. Md. MSc.
Franklin Antonio Vite Solórzano. MSc.
Patricio Alfredo Vallejo Valdivieso. Md. MSc.
Liliana Mirella Mendoza Mendoza. MSc.
Dolores Mirella Cedeño Holguín. MSc.
María Lucrecia Casanova Intriago. Md.
Fátima René Medina Pinoargote. MSc.
José Manuel Pigüave Reyes. MSc.
María Felicidad Vélez Cuenca. MSc.
Bolívar Augusto Cevallos Jácome. Md.
Sonia Patricia Ubillús Saltos. Ph.D.
Juan Pablo Ipiales Vásconez. Md. MSc.
Shirley Ximena Arteaga Espinoza. Dra.
Cindy Lissette Vivas Arteaga. MSc.
Carlos Antonio Escobar Suárez. Md. MSc.
María Cecibel Vera Marquez. MSc.
María José Terán Bejarano. Md. MSc*



Editorial Área de Innovación y Desarrollo,S.L.

Quedan todos los derechos reservados. Esta publicación no puede ser reproducida, distribuida, comunicada públicamente o utilizada, total o parcialmente, sin previa autorización.

© del texto: **los autores**

ÁREA DE INNOVACIÓN Y DESARROLLO, S.L.

C/ Els Alzamora, 17- 03802- ALCOY (ALICANTE) info@3ciencias.com

Primera edición: **marzo 2019**

ISBN: **978-84-949985-4-6**

DOI: <http://dx.doi.org/10.17993/Med.2019.62>

AUTORES

- Aida Macías Alvia. MSc.** Universidad Estatal del Sur de Manabí
- Leonardo Alfredo Mera Villamar. Md.** Universidad Estatal del Sur de Manabí
- Milton René Espinoza Lucas. Md. MSc.** Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí
Universidad Estatal del Sur de Manabí
- Franklin Antonio Vite Solórzano. MSc.** Hospital Civil Chone / Universidad Técnica de Manabí
- Patricio Alfredo Vallejo Valdivieso. Md. MSc.** Universidad Técnica de Manabí
- Liliana Mirella Mendoza Mendoza. MSc.** Hospital Civil Chone / Universidad Técnica de Manabí
- Dolores Mirella Cedeño Holguín. MSc.** Universidad Estatal del Sur de Manabí
- María Lucrecia Casanova Intriago. Md.** Hospital Civil Chone / Universidad Técnica de Manabí
- Fátima René Medina Pinoargote. MSc.** Universidad Técnica de Babahoyo
- José Manuel Pigüave Reyes. MSc.** Centro Especializado en Diagnósticos y Tratamiento “Muñoz”
- María Felicidad Vélez Cuenca. MSc.** Universidad Técnica de Manabí
- Bolívar Augusto Cevallos Jácome. Md.** Universidad Técnica de Manabí
- Sonia Patricia Ubillús Saltos. Ph.D.** Instituto Tecnológico Superior “Portoviejo”
Ministerio de Educación
- Juan Pablo Ipiales Vásconez. Md. MSc.** Hospital Juan Montalván. Los Ríos
- Shirley Ximena Arteaga Espinoza. Dra.** Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí
- Cindy Lissette Vivas Arteaga. MSc.** Hospital IESS Portoviejo.
- Carlos Antonio Escobar Suárez. Md. MSc.** Hospital General Docente “Ambato”
Universidad Central del Ecuador
- María Cecibel Vera Marquez. MSc.** Universidad Técnica de Babahoyo
- María José Terán Bejarano. Md. MSc.** Hospital General Docente “Ambato”

ÍNDICE

CAPÍTULO I: BACTERIOLOGÍA Y SALUD	11
1.1. Importancia de las bacterias como agentes etiológicos de enfermedades infecciosas.....	11
1.2. Bacteriología médica. Su importancia.....	11
1.3. Las bacterias como agentes etiológicos de enfermedades infecciosas	12
1.3.1. <i>La célula bacteriana</i>	13
1.4. Fisiología bacteriana. Medios de cultivo.....	20
1.5. Fisiología bacteriana.....	21
1.5.1. <i>Nutrición Bacteriana</i>	21
1.5.2. <i>Curva de crecimiento. Fases</i>	22
CAPÍTULO II: CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS. GENÉTICA BACTERIANA.....	25
2.1. Clasificación de las bacterias. Especie, tipo, cepa.....	26
2.2. Clasificación filogenética	27
2.2.1. <i>Clasificación por computación</i>	27
2.2.2. <i>Clasificación genética</i>	28
2.3. Genética bacteriana. Variaciones, transferencia de genes. Ingeniería genética.....	28
2.3.1. <i>Replicación de cromosoma</i>	28
2.3.2. <i>Mecanismos de transmisión del material genético</i>	30
2.3.3. <i>Los Plásmidos más frecuentes son</i>	31
2.4. Ingeniería genética	32
2.4.1. <i>Esterilización y desinfección</i>	33
2.4.2. <i>La esterilización. Usos y métodos de control</i>	34
CAPÍTULO III: LOS COCOS PIÓGENOS. ESTAFILOCOCOS, ESTREPTOCOCOS, ENTEROCOCOS.....	41
3.1. Los estafilococos	41
3.2. Morfología e identificación	42
3.3. Patogenia	44
3.4. Los estreptococos.....	46
3.5. Estructura antigénica.....	48
3.6. Características ecológicas.....	50
3.7. Clasificación de estreptococos de interés médico particular	51
3.8. Estructura antigénica.....	55
3.9. Morfología e identificación	58
3.10. Heterogeneidad genética y antigénica.....	60
3.10.1 <i>Diagnóstico de laboratorio</i>	62
3.10.2. <i>Estructura antigénica</i>	63
3.10.3. <i>Diagnóstico de laboratorio</i>	64
CAPÍTULO IV: LOS BACILOS GRAM (+).....	67

4.1. Bacillus	68
4.1.1. <i>Bacillus anthracis</i>	69
4.1.2. <i>Bacilos anaerobios esporulados</i>	69
4.1.3. <i>Morfología e identificación</i>	70
4.2. Clostridium tetani	71
4.3. Corynebacterias, Listeria y Actinomices	73
4.3.1. <i>Listeria monocitogenes</i>	75
4.4. Enterobacterias	76
4.4.1. <i>Estructura antigénica</i>	77
4.4.2. <i>Estructura antigénica</i>	78
4.5. Echerichia coli.....	80
4.6. Vibrionaceas y Pseudomonas.....	83
4.6.1. <i>Vibrio cólera O 139</i>	84
4.7. Pseudomona aeruginosa.....	87
4.8. Proteus, Yersinia y otras enterobacterias.....	89
CAPÍTULO V: LOS BACILOS GRAM (-) PEQUEÑOS	93
5.1. Forma e identificación	94
5.2. Los haemophilus.....	95
5.2.1. <i>Haemophilus influenzae</i>	95
5.3. Estructura antigénica.....	96
5.4. Requerimientos nutricionales	96
5.5. Bordetella pertussis.....	97
5.5.1. <i>Legionella Pneumophila</i>	97
5.5.2. <i>Bacteroides</i>	98
5.6. Las bacterias espiralares. Chlamydias	98
5.7. Chlamydias.....	105
5.8. Mycoplasma.....	107
5.8.1. <i>Rickettsias</i>	107
5.8.2. <i>Flora normal del cuerpo humano</i>	107
5.9. Infecciones nosocomiales. Concepto, clasificación	111
5.10. Métodos de control y lucha contra la infección intrahospitalaria o nosocomial.....	114
5.10.1. <i>Sitios de infección, fuentes y vehículos de infección y vías de transmisión</i>	116
5.11. Agentes etiológicos en las Infecciones Intrahospitalarias	117
CAPÍTULO VI: MEDIO AMBIENTE INANIMADO	123
6.1. Aire y superficies	123
6.2. Equipos de esterilización	124
6.3. Soluciones desinfectantes	125
6.4. Catéteres.....	125

6.5. Alimentos y otras muestras.....	126
6.6. Estudios de brote de IIH.....	126
6.7. Naturaleza del medio y de la población bacteriana.....	129
6.8. Muestras para la investigación bacteriológica. Requisitos.....	129
6.9. Uso adecuado del recurso microbiológico en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas.....	135
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	145

CAPÍTULO I: BACTERIOLOGÍA Y SALUD

Aida Macías Alvia. MSc. Universidad Estatal del Sur de Manabí

Leonardo Alfredo Mera Villamar. Md. Universidad Estatal del Sur de Manabí

Milton René Espinoza Lucas. Md. MSc. Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí
Universidad Estatal del Sur de Manabí

1.1. Importancia de las bacterias como agentes etiológicos de enfermedades infecciosas

Las bacterias se encuentran por todas partes, en el suelo, en el aire, en el agua y particularmente en todo tipo de materia orgánica muerta. Son microorganismos unicelulares que se reproducen por división simple, es decir, fisión binaria. Unas pocas como las chlamydias y las rickettsias, son parásitos intracelulares obligados. Desempeñan un importante papel en los procesos metabólicos de la materia viva, descomponiendo los substratos orgánicos procedentes de las plantas y de los animales, mineralizándolos y restituyéndolos a la naturaleza para su nuevo aprovechamiento. Mientras todas las plantas y animales superiores resuelven sus requerimientos energéticos a través de las vías metabólicas muy estereotipadas, en las bacterias encontramos una gran diversidad de procesos bioquímicos que les permiten sobrevivir a expensas de compuestos muy simples. Las bacterias productoras de enfermedades tienen casi requerimientos metabólicos complejos, que las obligan a vivir de las materias vivas, mediante su adaptación al modo de vida parásito, por haber perdido la capacidad de sintetizar algunos compuestos esenciales.

1.2. Bacteriología médica. Su importancia

El estudio de la bacteriología permite comprobar los principios de la biología, porque las bacterias poseen muchos caracteres que las hacen sujeto ideal para la investigación de los fenómenos biológicos. Pueden cultivarse fácilmente en tubos o matraces, lo que requiere menos espacio y manutención que las plantas o los animales. Crecen rápidamente y se reproducen a un ritmo extraordinario, algunas especies de bacterias producen casi 100 generaciones en un período de 24 horas.

En ninguna parte se aprecia mejor la diversidad biológica como en los microorganismos, los cuales no se pueden observar a simple vista. En forma y función, ya sea en la propiedad bioquímica o mecanismo genético, el análisis de microorganismos lleva a los límites de comprensión de los fenómenos biológicos. Por tanto, la necesidad de originalidad- prueba del valor de una hipótesis científica puede cumplirse con la microbiología. Una hipótesis útil deberá proporcionar una

base para generalizar y la diversidad microbiana proporciona un campo donde este reto está siempre presente.

La predicción, consecuencia práctica de la ciencia, es un producto creado por una mezcla de técnica y teoría. La bioquímica y genética proporcionan los medios requeridos para el análisis de los microorganismos. A su vez la microbiología extiende los horizontes de estas disciplinas científicas.

Una división biológica mayor separa a los eucariotes, organismos que poseen un núcleo rodeado por membrana de los procariotes, organismos donde el DNA, no tiene una separación física del citoplasma, los procariotes, además, no contienen ribosomas 80S u organoides unidos a membrana, como el núcleo, las mitocondrias, los lisosomas, el retículo endoplásmico o los cuerpos de Golgi, y carecen de la estructura 9 + 2 flagelar fibrilar o ciliar característica de las células eucarióticas. Los eucariotes y procariotes son organismos debido a que contienen todas las enzimas requeridas para su replicación y poseen el equipo biológico necesario para la producción de energía metabólica. Así eucariotes y procariotes se distinguen de los virus, que dependen de las células huésped para efectuar estas funciones tan necesarias.

Muchas son las aplicaciones de la bacteriología, en el ambiente, en los procesos industriales, en el control de los insectos causantes de enfermedades, en la depuración microbiana de aguas residuales, etc.; todos éstos con fines beneficiosos para el hombre, sin embargo, también en la guerra biológica, con el empleo deliberado de organismos vivos o de sus toxinas para causar la muerte o incapacidad.

El interés y la investigación en torno a la guerra biológica cumplen 2 fines importantes: 1ro la preparación para la defensa y 2do que pudiera considerarse accidental, pero los métodos y conocimientos adquiridos al protegernos para la guerra biológica aumentarán nuestra posibilidad de controlar las enfermedades debido a causas naturales.

1.3. Las bacterias como agentes etiológicos de enfermedades infecciosas

Aun antes de que Pasteur demostrara experimentalmente que las bacterias eran la causa de algunas enfermedades, muchos observadores habían presentado pruebas de la teoría de los gérmenes como agentes productores de enfermedades. Fracastori de Verona (1483-1553) sugirió ya que las enfermedades podían deberse a organismos invisibles que se transmitían de una persona a otra. En 1792 Anton Van Plenciz, de Viena, no sólo estableció que la causa de enfermedad eran agentes vivos, sino

que supuso que gérmenes diferentes provocaban distintas enfermedades y Oliver Wendell; médico famoso y hombre de letras, insistió en que la fiebre puerperal era contagiosa y se originaba probablemente por un germen que se transmitía de unas madres a otras.

Existen pocas enfermedades infecciosas cuyo agente etiológico no se conozca. El hecho de que algunas infecciones microbianas no estén dominadas puede deberse, bien a nuestro defecto del conocimiento de factores predisponentes en el huésped o a otros aspectos de la patogenia, tales como la acción sinérgica de los microorganismos.

1.3.1. La célula bacteriana

Resulta casi imposible comprender lo que sucede en el interior de la célula viva, si se carece de los conocimientos sobre la acción enzimática; obtenidos en los cursos de bioquímica. Para comenzar nuestro estudio sobre la célula bacteriana, debemos considerarla como una pequeñísima bolsa repleta de enzimas, capaz de desarrollar un intercambio energético con el medio, que puede ser más de cien veces mayor con respecto al mismo peso de tejido humano.

Morfología de las bacterias. Clasificación (según morfología):

Las bacterias pueden tener algunas de las tres formas:

- Esféricas o redondas (cocos).
- Cilindroideas o en forma de bastón (bacilos).
- Espírales encorvados a manera de tirabuzón (espirilos).

Estructura de la célula procariótica

La célula procariótica es más simple que la célula eucariótica a cualquier nivel con una excepción: la pared celular puede ser más compleja.

Estructuras externas

- Membrana celular.
- Pared celular.
- Cápsulas y glicocálix.
- Flagelos.
- Fimbrias (Pilis, Pelos).

Estructuras internas

- Nucleoides.
- Ribosomas.
- Gránulos (Citoplasmáticos).
- Mesosomas.
- Cromatóforos.

Estructuras externas

Membrana celular

Envoltura flexible que rodea al citoplasma, es visible en las micrografías electrónicas de cortes bacterianos finos. Las membranas de los procariotes se distinguen de las membranas de las células eucarióticas por la ausencia de esteroides, siendo la única excepción las micoplasmas, los cuales incorporan en sus membranas a los mismos al crecer en medios que contienen esteroides.

Composición:

- Fosfolípidos.
- Polipéptidos.

Funciones:

- Permeabilidad selectiva y transporte activo de solutos al interior de la célula.
- Transporte de electrones y fosforilación oxidativa, en especies aerobias. (respiración).
- Excreción de exoenzimas hidrolíticas.
- Porta las enzimas y las moléculas transportadoras que intervienen en la biosíntesis de DNA, polímeros de la pared celular y lípidos de membrana.
- Porta los receptores de membrana y otras proteínas de los sistemas quimiotácticos y otros de traducción sensorial.

Pared celular

Envoltura rígida entre la membrana y la cápsula, diferente en las bacterias Gram (+) y las bacterias Gram (-).

Composición:

Gram (+)

- Mureína-Peptidoglicano-Neuropéptido (responsable de la integridad estructural de la pared).
- Ácidos teicoicos (Forman hasta el 50% del peso seco de la pared).
- Son polímeros hidrosolubles que contienen residuos de Ribitol o Glicerol.

Gram (-)

- Mureína-Peptidoglicano-Mucopéptido.
- Lipoproteínas.
- LPS (Es muy tóxico para los animales y se les denomina endotoxinas debido a que sólo es liberado cuando las células bacterianas son lisadas).
- Las bacterias **Gram (-)** también presentan la **membrana exterior**, típica capa formada por fosfolípidos, LPS y proteínas, **que tiene como función:**
 - a. Transporte de pequeñas moléculas como vitamina B-12.
 - b. Receptores de fagos.
 - c. Replicación DNA y división celular.
 - d. Barrera a grandes moléculas de ahí la resistencia de las bacterias Gram (-) a los antibióticos.

Funciones:

- Protección osmótica: (La presión osmótica interna de las bacterias es muy grande, fluctúa entre 5 a 20 atmósferas, como resultado de una concentración de solutos adquiridos mediante transporte activo. En casi todos los medios esta presión sería suficiente para hacer explotar la célula si no fuera por la presencia de paredes celulares con enorme resistencia a la tensión. La pared celular bacteriana debe su resistencia a la mureína).
- División celular, funcionando como un primordio para su propia biosíntesis.
- Carácter tintoreal.
- Morfología.
- Varias capas de la pared celular son sitios de determinantes antigénicos primordiales de la superficie celular.

- La pared celular es en general permeable sin selectividad específica, sin embargo, la membrana externa bloquea el paso de moléculas relativamente grandes.

Protoplastos y esferoplastos: Las bacterias habitualmente se lisan en agua o suero cuando la capa de peptidoglucano de la pared celular rígida de la envoltura celular se disuelve con lisozima o por medio de otros agentes. Sin embargo, cuando se le estabiliza con soluciones hipertónicas de sacarosa o de sales (0,2 a 0,5, según el microorganismo) se libera un cuerpo esférico carente de pared y osmóticamente sensible que se conoce como protoplasto. Cuando se retienen los componentes de la envoltura, el cuerpo osmóticamente sensible se denomina esferoplasto. En general las bacterias Gram (+) producen protoplastos, mientras que, los microorganismos Gram (-) originan esferoplastos, dado que retienen de manera inevitable, algunos componentes de la membrana externa.

Cápsula

Envoltura mucilaginoso más externa, por fuera de la pared celular. Muchas bacterias sintetizan grandes cantidades de un polímero extracelular cuando se desarrollan en su ambiente natural. Con una sola excepción (el ácido poli-D-glutámico de la cápsula de **Bacillus anthracis**), todo este material extracelular, es un **polisacárido**. Cuando el polímero forma un condensado, una capa bien definida rodea estrechamente a la célula, se le llama cápsula; cuando el polímero forma una maraña de fibras que se extienden fuera de la célula, se le conoce como **glicocálix**. En ocasiones se forman masas de polímeros que parecen estar totalmente separadas de la célula, pero en las cuales las células pueden estar atrapadas; en estos casos se puede referir al polímero extracelular, simplemente como una “envoltura mucoide”. El polímero extracelular es sintetizado por enzimas localizadas en la superficie externa de las células bacterianas.

Composición:

- Polisacáridos.
- A veces ácido hialurónico.
- En algunas bacterias está constituida por polipéptidos.

Funciones:

Protege a las bacterias de la fagocitosis a menos que estén recubiertas de anticuerpos anticapsulares, por lo que contribuye a la impasividad de las bacterias patógenas.

La glicocálix, tiene una función importante en la adherencia de las bacterias a la superficie de su medio, incluyendo a las células de sus huéspedes vegetales o animales.

Flagelos

Apéndices delgados, flexibles y largos, miden de 12 a 30 nm de diámetro. Se conocen varios tipos de flagelos: monótricos (un sólo flagelo polar), lofótricos (penacho de flagelos polares), perítricos (flagelos distribuidos alrededor de toda la célula).

Composición:

- Proteína (Flagelina).

Funciones:

- Movilidad.

(Se originan en el **CITOPLASMA** y no en la pared celular.)

Fimbrias (pilis o pelos)

Apéndices muy finos, rígidos y cortos. Muchas bacterias Gram (-) lo presentan. Se conocen 2 tipos de pilis:

- Pili ordinario (adhesión de una bacteria a la célula del huésped).
- Pili sexual (responsable de la unión de célula donadora y aceptará en la conjugación bacteriana).

La virulencia de ciertas bacterias patógenas no sólo depende de la producción de toxinas, sino también de los “antígenos de colonización”, que en la actualidad se han reconocido como simples pilis que dan a las células propiedades adherentes. En las cepas de E. coli enteropatógena, tanto las enterotoxinas como los antígenos de colonización (pilis) están determinados genéticamente por plásmidos transmisibles.

Un grupo de cocos Gram (+), los estreptococos, portan una capa de fimbrias que son el sitio del principal antígeno de superficie, la proteína M. El ácido lipoteicoico contenido en estas fimbrias, es el responsable de la adherencia de los estreptococos del grupo “A” a las células epiteliales del huésped.

Estructuras internas: (las células procarióticas carecen de plástidas autónomas como las mitocondrias y los cloroplastos).

- Nucleoide.** - Fibrilla de ADN que constituye un cromosoma circular único de aproximadamente 1 mm de longitud cuando está desenrollado, con un peso molecular alrededor de $2 \text{ a } 3 \times 10^9$. Las micrografías electrónicas revelan la ausencia de membrana nuclear y de sistema mitótico. El núcleo procariótico puede verse con microscopio óptico en material teñido. Es Feulgen- positivo indicando la presencia de DNA. **FUNCION:** Hereditaria.

- b. Ribosoma.** - Partículas de ARN donde se realiza la síntesis proteica. El número de ribosomas varía de acuerdo con las condiciones de crecimiento: las células de crecimiento rápido en un medio rico contienen muchos más ribosomas que las de crecimiento lento en medio pobre.
- c. Gránulos Citoplasmáticos.** - los gránulos identificados por procedimientos adecuados de tinción, indican la acumulación de reservas de alimentos, lo que incluye polisacáridos, lípidos y polifosfatos. Los gránulos varían con el tipo de medio y el estado funcional de las células. El glucógeno es el principal material de almacenamiento de las bacterias entéricas (40 % del peso seco de algunas especies). De manera similar, algunas especies de **Bacillus y Pseudomonas** acumulan 30 % o más de su peso como poli hidroxibutirato. Finalmente están las polifosfatos, también conocidos como gránulos de tinción metacromática de Babes- Ernst o gránulos de volutina, que se encuentran en el *Corynebacterium diphtheriae*, en el bacilo de la peste (**Yersinia pestis**), en micobacterias (por ej. **Mycobacterium tuberculosis**) y otros. Los gránulos de volutina se tiñen de diferentes colores, que varían del rojo al azul (es decir de forma metacromática), con azul de toluidina y azul de metileno.
- d. Mesosoma.** - Invaginaciones de la membrana celular. Habitualmente se observan como sacos citoplasmáticos asociados a la membrana en las células Gram (+) que contienen estructuras laminares, tubulares o vesiculares. Por microscopía electrónica en cortes delgados se ha demostrado la fijación de los mesosomas tanto a la cromatina de DNA como a la membrana. **FUNCIÓN:** División celular.
- e. Cromatóforos.** - Laminillas de pigmentos fotosintéticos. **FUNCIÓN:** Fotosíntesis en las bacterias fotosintéticas.

Esporas:

Algunas bacterias son capaces de formar esporas, como las pertenecientes a los géneros **BACILLUS y CLOSTRIDIUM**, la espora es una célula bacteriana en reposo rodeada de gruesas capas resistentes al calor y agentes químicos.

Se forma en el citoplasma bajo condiciones ambientales adversas (**Esporulación**) es liberada por destrucción de la célula original y en condiciones nutricionales favorables, puede activarse para producir una célula bacteriana única (**Germinación**).

Por esto la formación de esporas en las bacterias se considera un mecanismo de resistencia y no una forma de reproducción, ya que no aumenta el número de individuos.

División celular

Las bacterias se producen o multiplican por fisión binaria o bipartición. Después del alargamiento de la célula, se forma una membrana citoplásmica transversa y subsiguientemente una nueva pared celular. En las bacterias, la membrana transversa y la pared celular crecen a partir de las capas más externas hacia el interior, un proceso en el cual los mesosomas del tabique se hallan íntimamente involucrados. Los núcleos cuyo número se ha duplicado antes de la división, se distribuyen equitativamente entre las dos células hijas.

Aunque las bacterias carecen de un huso acromático, la membrana transversa se forma de tal modo, que separa a los dos cromosomas homólogos formados por replicación cromosómica. Esto se logra mediante la fijación del cromosoma a la membrana celular. De acuerdo con un modelo, la terminación de un ciclo de replicación de DNA desencadena aparentemente la síntesis de membrana entre los sitios de fijación de los dos cromosomas homólogos que son desplazados por el crecimiento invaginante de la membrana transversa. Continúa el depósito de nuevo material celular, originando el estiramiento y el doblamiento final de la envoltura celular.

Agrupaciones bacterianas

Al permanecer unidas temporalmente las células después de dividirse, pueden formar ciertos grupos característicos. Dependiendo del plano de la división y del número de divisiones, a través de las cuales las células permanecen unidas, pueden ocurrir los siguientes arreglos:

Cocos:

- Parejas (diplococos).
- Cadenas (Estreptococos).
- Racimos (Estafilococos).
- Grupos de 4 células (Tétradas).
- Grupos de 8 células (Sarcinas).

Bacilos:

- Parejas (Diplobacilos).
- Cadenas (Estreptobacilos).
- Hileras paralelas (Palizadas o letras chinas).

1.4. Fisiología bacteriana. Medios de cultivo

La población de microorganismos en la biósfera es aproximadamente constante: su crecimiento se encuentra contrabalanceado por la muerte. La supervivencia de cualquier grupo microbiano dentro de su nicho depende en gran parte de la competencia con éxito por los nutrientes y de la conservación de una reserva de células vivientes durante la privación nutricional. Cada vez está más claro que muchos microorganismos existen en consorcios formados por representantes de diferentes géneros. Otros microorganismos, caracterizados a menudo como células únicas en el laboratorio, forman colonias cohesivas en el ambiente natural.

La mayor parte de los conocimientos con que se cuenta de la fisiología microbiana, se han derivado del estudio de líneas celulares aisladas que crecen en condiciones óptimas. De todas maneras, cabe recordar que muchos microorganismos compiten en el ambiente natural mientras están en tensión nutricional, circunstancia que puede producir un estado fisiológico bastante distinto al observado en un laboratorio. Debe reconocerse que cualquier nicho microbiano vacante del ambiente se llenará con prontitud. Los procedimientos de salud pública para eliminar a los microorganismos patógenos mediante depuración de su nicho probablemente tendrán menos éxito que los métodos para dejar el nicho ocupado por competidores no patógenos que tienen éxito para hacerlo.

El trabajo que realizan las células bacterianas para crecer, multiplicarse e interrelacionarse con el ambiente, requiere de una fuente energética que excepto en las formas fotosintéticas, proviene de la degradación de compuestos químicos, que, en el caso de las bacterias patógenas al hombre, son suministradas por los tejidos del hospedero.

Las células bacterianas al igual que las células de todos los organismos vivos, realizan una serie de transformaciones químicas, mediante reacciones enzimáticas, que en su conjunto constituyen el metabolismo celular. Las posibilidades metabólicas de una célula determinan la calidad y cantidad de nutrientes requeridos y le aseguran la capacidad para producir “trabajo” (biosíntesis, transporte, movimiento). El metabolismo de las células está sujeto a mecanismos de regulación que permiten una distribución del flujo de energía y materia que, respetando el principio de máxima economía, resulta en un aumento ordenado de todos los componentes celulares, siendo esta la definición de crecimiento.

1.5. Fisiología bacteriana

Metabolismo: Es la totalidad de las reacciones químicas llevadas a cabo en las células vivas.

Por medio de estas reacciones se obtiene la energía del medio que se consume en las biosíntesis y el crecimiento, así como en actividades secundarias, como la movilidad, la luminiscencia y la producción de calor.

La energía puede ser obtenida del medio en forma de luz → **Fotosíntesis**

O a través de la oxidación de sustancias químicas → **Quimiosíntesis**

Si la sustancia química oxidada es inorgánica, el organismo es llamado → Litotrófico

Si es orgánico se llama → **Organográfico**

Las reacciones por medio de las cuales la energía adquirida es usada para la síntesis celular, se conoce como → **Anabolismo**

Las reacciones de liberación de energía responsable de la degradación de las sustancias químicas son agrupadas bajo el termino de → **Catabolismo**

Las reacciones metabólicas en las células vivas son exergónicas. (con liberación de energía).

En las bacterias **no** fotosintéticas el **ATP** se genera por reacciones de óxido- reducción.

Diferentes grupos de bacterias son capaces de emplear tipos diferentes de **donadores y aceptores** de hidrógeno de tal manera que en el metabolismo microbiano podemos encontrar los tres tipos de oxidación biológica:

Respiración Aerobia. El aceptor final de hidrógeno es el oxígeno molecular.

Respiración Anaerobia. El aceptor final del hidrógeno es un compuesto inorgánico (Nitrato, Sulfato, Carbonato, etc.,).

Fermentación. El aceptor final de hidrógeno es un compuesto orgánico.

1.5.1. Nutrición Bacteriana

La Nutrición Bacteriana es la provisión de nutrientes para el crecimiento.

Factores ambientales que afectan el crecimiento:

Nutrientes

- Donadores de Hidrógeno (Glucosa).
- Aceptores de Hidrógeno (Oxígeno molecular).

- Fuente de C.
- Fuente de Nitrógeno (Amoniac).
- Minerales (S).
- Factores de crecimiento (La célula no puede sintetizar A.A, Vitaminas, etc.)

Concentración de iones hidrógeno (PH):

La mayoría de los microorganismos crecen mejor en un PH de 6 a 8. Algunos necesitan PH bajo y otros altos.

Temperatura

- Psicrófilicos (10 – 20 °C).
- Mesófilicos (30 – 37 °C).
- Termófilicos (40 – 60 °C).

Aereación

- Los Aerobios obligados sólo crecen en presencia de O₂.
- Los Anaerobios obligados sólo crecen en ausencia de O₂.
- Los Facultativos se desarrollan en presencia o ausencia de O₂.
- Los Microaerófilos sólo crecen a bajas tensiones de O₂.

Otros factores:

- Presión Osmótica.
- Concentración salina.

1.5.2. Curva de crecimiento. Fases

Al inocular un medio de cultivo líquido con células bacterianas viables, (tomadas de un cultivo que previamente ha crecido hasta la saturación), y se incuba a una temperatura adecuada, de los datos obtenidos durante diferentes períodos de tiempo (abscisas) sobre la concentración de bacterias por mililitro de medio (ordenadas) se obtiene una curva similar a la mostrada en el gráfico, la cual puede ser dividida para su estudio en cuatro fases principales:

La fase de latencia (A) representa el período de adaptación de las bacterias al nuevo ambiente que han sido inoculadas.

En la fase de crecimiento logarítmico (B) las células disponen de nutrientes abundantes que les permiten sintetizar nuevo material a un ritmo constante, por lo que la masa aumenta en forma exponencial. La fase estacionaria (C) indica el agotamiento de

nutrientes y/o la acumulación de metabolitos tóxicos, que determinan un cese total del crecimiento. Por último, durante la fase de muerte la tasa de mortalidad adquiere un nivel sostenido, aunque pueden persistir algunas células que logran sobrevivir a expensas de los nutrientes liberados por las bacterias que mueren.

El cultivo de los microorganismos clasificación de los medios de cultivo

En los laboratorios de microbiología clínica y sanitaria, el personal técnico procede a elaborar diariamente una serie de compuestos nutritivos, los cuales tienen la finalidad de proporcionar a los diferentes microorganismos que se investigan, una fuente de alimentos, donde cada especie halle los nutrientes específicos de acuerdo con sus exigencias nutricionales, de esta forma el germen dispondrá de los alimentos suficientes que le permiten desarrollarse y multiplicarse a la vez que realizan el conjunto de sus actividades fisiológicas habituales.

Estos nutrientes pueden ser simples o complejos y reciben el nombre de medios de cultivo.

Clasificación de los medios de cultivos

Según su estado físico

- Líquidos (caldos).
- Sólidos. (se le agrega agar o gelatina en proporciones adecuadas para obtener un material gelificado).
- Semisólidos. (se le agrega agar o gelatina en proporciones adecuadas para obtener un material gelificado en menor proporción.)

Según su composición

- Naturales.
- Simples.
- Artificiales.
- Sintéticos.
- Vivos.

Simple: Se utilizan tal y como se encuentran en la naturaleza, (leche, jugos, vegetales, papas), cuando sufren modificaciones, por ejemplo: obtención de caldo, pierde su condición de simple natural para convertirse en simple artificial.

Sintéticos: En éstos se encuentran todas las sustancias nutritivas que requieren los grupos bacterianos. Casi siempre se suministran deshidratados, basta sólo añadirle

agua (cantidad requerida). Ej. Caldo corazón, medio de Kligler, medio de Mac Conkey, SS agar, etc. En estos medios es importante que **SIEMPRE** se le ajuste el PH.

Vivos: Aquí tenemos: Cultivo de tejidos, embriones de pollo, etc.

Según su finalidad y objetivos

- **Enriquecimiento:** Favorece el desarrollo de una especie determinada que por encontrarse en pequeñas cantidades simultáneamente con otras bacterias se hayan en desventaja. Ej.: Selenito de Sodio, Caldo Tetrionato, Agua de Peptona Alcalina.
- **Selectivos:** Resultan específicos para un solo tipo de germen no pudiendo desarrollarse en ellos, ninguna de las demás especies. Ej.: SS agar.
- **Diferenciales:** Cada una de las especies que en él se puedan desarrollar, habrán de producir determinadas reacciones bioquímicas evidentes las cuales se ponen de manifiesto posteriormente. Ej.: Kligler, Mac Conkey, TCBS, etc.
- **Universales:** En él se desarrollan la mayoría de los microorganismos. Ej.: Agar Sangre.

Aislamiento de bacterias en cultivo puro

Para lograr identificar una especie bacteriana es necesario, ante todo, aislarla en un cultivo puro que sólo contenga a la progenie de una célula de dicha especie. Para ello es necesario “sembrar” una porción de la muestra sobre la superficie de un medio sólido para separar a las bacterias de modo tal, que en el sitio en que queda confinada cada una de ellas, se desarrolla una colonia.

Colonias bacterianas

La colonia bacteriana contiene teóricamente, un cultivo puro, y tanto sus características morfológicas, como las transformaciones que produce sobre el medio de cultivo empleado, tienen valor diagnóstico. A partir de una colonia aislada, podemos inocular otros medios y realizar diferentes pruebas que nos conduzcan a la identificación de la especie.

CAPÍTULO II: CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS. GENÉTICA BACTERIANA

Franklin Antonio Vite Solórzano. MSc. Hospital Civil Chone
Universidad Técnica de Manabí

Patricio Alfredo Vallejo Valdivieso. Md. MSc. Universidad Técnica de Manabí

Liliana Mirella Mendoza Mendoza. MSc. Hospital Civil Chone
Universidad Técnica de Manabí

En clínica, el propósito inmediato de la clasificación bacteriana es la identificación de patógenos. Esta información permite seleccionar el tratamiento farmacológico dirigido de manera específica a su erradicación. Bajo estas circunstancias, las normas para la excelencia de las técnicas de clasificación bacteriana son resultados rápidos e identificación inequívoca de patógenos potenciales.

La mayor parte de las bacterias no son patógenas y la comprensión de la biología de los grupos principales, incrementa el conocimiento de condiciones que pueden favorecer la eliminación de subconjuntos relativamente pequeños de microorganismos que causan enfermedad. Conforme aumenta el conocimiento de las bacterias, las propiedades que comparten y en las que difieren han dado origen a sistemas de clasificación que en general permiten clasificar una bacteria recién identificada dentro de un grupo de microorganismos bien caracterizados. La creación y aplicación de estos sistemas forman la ciencia de la taxonomía y la sistemática.

Para establecer ciertos grupos de organismos que comprendan los que son semejantes entre sí y diferentes de otros, es requisito previo fundamental el conocimiento completo de los caracteres de dichos organismos. Las propiedades principales que se utilizan para establecer estos grupos e identificar las especies, se han mencionado en las actividades docentes anteriores. Comprenden → **la morfología o anatomía de la célula; los caracteres de cultivo, por ejemplo, la manifestación de ciertas cualidades fisiológicas, como son los que se refieren a la influencia del oxígeno y la temperatura, actividades bioquímicas; constitución antigénica de la célula (propiedades serológicas) y capacidad patógena.**

Por otro lado, y desde los tiempos de Pasteur y Koch. Conocen los bacteriólogos el hecho de que una misma especie bacteriana puede presentar desviaciones en su morfología y fisiología normales. Esto podría inducir a perplejidad, porque como sabemos, la identidad de un microorganismo se determina por comparación de los caracteres que presenta con los establecidos previamente para su especie.

2.1. Clasificación de las bacterias. Especie, tipo, cepa

Las plantas y los animales superiores poseen una riqueza de rasgos morfológicos y fisiológicos que facilitan su clasificación en grupos de individuos que presentan entre sí un elevado nivel de similitud fenotípica, lo que permite diferenciarlos de otros grupos.

La reproducción sexual entre dos individuos de una población confirma la pertenencia a una especie determinada. La simplicidad de los procariotes, impide que las reglas taxonómicas utilizadas por los botánicos y zoólogos sean aplicables en la clasificación de las bacterias.

ESPECIE TIPO CEPA

La determinación de especies es motivo de grandes polémicas. Se considera como especie a una población que:

- Tiene un origen común.
- Está adaptada a un hábitat determinado.
- Posee un metabolismo celular y establece relaciones semejantes con otras especies.
- Presenta homogeneidad genética y similitud fenotípica general en sus rasgos morfológicos y fisiológicos.

No obstante, si nos atenemos a estas normas son muy pocas las especies bacterianas que se encuentran bien definidas.

Aun dentro de los individuos de una especie, se producen diferencias entre los grupos en diferentes tipos o variedades.

- Según su estructura antigénica (serovar).
- Susceptibilidad a los bacteriófagos (fagovar).
- Actividad bioquímica (quimiovar).

CEPA: Conjunto de células bacterianas que tienen un origen común, por haber sido obtenida a partir de un cultivo puro.

Tipo de clasificación de las bacterias

Las claves o clasificaciones artificiales

Aquellos en que los rasgos distintivos de cada especie se arreglan en una orden tal que permiten identificación rápida basada en exclusiones sucesivas.

Clasificación de Murray

Útil para la práctica médica ya que incluye a las bacterias patógenas más frecuentes, se basa en lo siguiente:

Caracteres morfológicos y tintoreales:

- Cocos.
- Bacilos.
- Espirilos.
- Gram (+).
- Gram (-).
- BAAR.

Crecimiento en presencia o no de O₂

Aerobios

Anaerobios

2.2. Clasificación filogenética

Una clasificación filogenética agrupa a tipos que se encuentran emparentados, es decir que tienen un ancestro común.

Las especies originadas por evolución divergente de un ancestro común se agrupan en un solo género.

Los géneros con un origen común son agrupados en una sola familia.

El reconocimiento de relaciones filogenéticas en los organismos superiores es ayudado grandemente por la existencia de restos fósiles de ancestros comunes y por la multitud de características morfológicas que puedan estudiarse.

La carencia de fósiles de bacterias imposibilita emplear esta clasificación.

2.2.1. Clasificación por computación

La era de las computadoras ha creado el método de introducción de 100 o más propiedades taxonómicas en una máquina para que ésta las agrupe acorde a sus similitudes.

De este modo, la cepa que ocupe una posición promedio en cada grupo puede ser considerada como especie tipo.

2.2.2. Clasificación genética

Mediante técnicas empleadas en las investigaciones de biología molecular e ingeniería genética, se emplean como indicadores de identidad, la composición de bases nitrogenadas del ADN, siendo la relación G/C la más empleada.

Nomenclatura bacteriana

Siguiendo las tradiciones taxonómicas, las bacterias se designan con nombres en latín en que el primero escrito con mayúscula designa al género y el segundo con minúscula a la especie:

- Staphylococcus aureus.
- Salmonella typhi.
- Streptococcus pneumoniae.
- Escherichia coli.
- Neisseria meningitidis.
- Neisseria gonorrhoeae.

2.3. Genética bacteriana. Variaciones, transferencia de genes. Ingeniería genética

Los microorganismos no son estables en sus características, ya sea en la asimilación de ciertas sustancias, en su comportamiento frente a las drogas, etc.

Aunque todos los miembros de una colonia se producen de una célula ocurren cambios y éstos se deben al mecanismo genético de las bacterias y es precisamente la genética bacteriana lo que vamos a estudiar ahora.

El Cromosoma Bacteriano es una estructura continua de DNA de aproximadamente 1 mm de longitud. En la actualidad se conocen bien la estructura de DNA gracias a los trabajos de Watson y Crick. Consiste en una doble hélice formada por 2 tiras de polinucleótidos complementarios en cada uno de los cuales las bases de purina y pirimidina están dispuestas a lo largo de un espinazo de grupos alternantes de desoxirribosa y fosfato. Las dos tiras se mantienen unidas por puentes de Hidrógeno entre las bases vecinas y sólo estos puentes se forman entre la **A-T y G-C**.

2.3.1. Replicación de cromosoma

Las tiras complementarias se separan actuando cada una de ellas como un molde o plantilla sobre el cual se ensambla una tira complementaria. El orden de sucesión de las bases en la nueva tira es dictado rígidamente por las posibilidades de formación

de los puentes de Hidrógeno donde quiera que el templete lleve adenina la nueva cadena tendrá timina y así sucesivamente. En consecuencia, la replicación, lleva a la formación de dos nuevas hélices y cada una identifica a la original.

El cromosoma bacteriano se replica siguiendo un orden a lo largo de su estructura empleando en una secuencia específica a las que se llama punto de origen o replicación, este punto es el que se adhiere al mesosoma de la membrana celular.

El cromosoma se subdivide para su función en segmentos cada uno de los cuales determina el orden de sucesión de los A.A. y por tanto la estructura de una proteína. Estas proteínas como enzimas, componentes de membrana y otras estructuras celulares determinan las propiedades del organismo.

GEN: No es más que un segmento de DNA cromosómico que determina la estructura de una proteína discreta.

La Genética es la ciencia de la herencia, existen dos fenómenos biológicos básicos que intervienen en el mecanismo de la herencia.

1. La muy frecuente estabilidad del tipo, es decir, la similitud entre descendientes y progenitores.
2. La rara aparición de variaciones hereditarias.

La base física de ambos fenómenos se encuentra en el **GEN** (factor genético que controla las propiedades de los organismos).

La sustancia química de los cromosomas, responsable tanto de la auto reproducción como de la función de los genes es el ADN.

GENOTIPO: Conjunto de genes que posee una célula.

FENOTIPO: Conjunto de las propiedades observables.

Variaciones biológicas

Los cambios o variaciones que ocurren en las propiedades de las células pueden ser de dos tipos:

Variaciones Fenotípicas (Modificaciones):

Son cambios temporales provocados por factores ambientales que no comparten alteraciones de los genes. Estas variaciones transitorias cesan cuando desaparece el estímulo ambiental que las provoca. Pueden variar de esta forma los caracteres morfológicos, de cultivo, y las propiedades fisiológicas o bioquímicas.

Variaciones Genotípicas (Mutaciones):

Las mutaciones son cambios en la secuencia de nucleótidos de un gen, que provocan alteraciones permanentes en los caracteres hereditarios.

La secuencia de nucleótidos puede alterarse por:

- Sustitución de un par de bases por otro.
- Ruptura de las uniones fosfato-azúcar por supresión, inversión o inserción de segmento.

Normalmente las mutaciones son raras, y por lo común sólo una entre millones de células llega a ser una mutante.

Las mutaciones pueden ocurrir espontáneamente o ser inducidas por determinados agentes mutágenos como:

- Radiaciones.
- Sustancias químicas, etc.

2.3.2. Mecanismos de transmisión del material genético

En las bacterias no hay fusión real de células sexuales para formar un cigote como ocurre en los organismos eucarióticos. En lugar de ellos, parte del material genético de una célula donadora es transferido a una célula receptora. El ADN proveniente del exterior y el material genético de las células receptoras se aparean y recombinan por ruptura y reunión inmediatamente después de la transferencia. Durante las divisiones celulares posteriores, el cromosoma recombinante es segregado en el interior de una sola célula.

Existen 3 mecanismos de transferencia intercelular:

a. TRANSFORMACIÓN:

Una célula receptora competente capta ADN soluble del medio, liberada por la célula donadora.

b. TRANSDUCCIÓN:

La célula receptora incorpora el ADN transportado por un bacteriófago (virus de las bacterias) que se ha multiplicado en la célula donadora.

c. CONJUGACIÓN:

La célula receptora capta ADN por contacto celular directo con la célula donadora.

Las bacterias son huéspedes de pequeños elementos genéticos extracromosómicos llamados Plasmidios o Plásmidos.

Los Plásmidos no son esenciales para la célula bajo condiciones ordinarias de crecimiento. Su presencia se identifica cuando los genes que llevan le confieren nuevas propiedades al huésped y entonces por lo general son designadas por estas propiedades.

2.3.3. Los Plásmidos más frecuentes son

LOS FACTORES SEXUALES: Son los mediadores de la transferencia cromosómica. Estos factores provocan la formación de un **pili sexual** por el cual se une a la célula receptora.

LOS FACTORES COL: Transportan genes que provocan que sus huéspedes produzcan lisinas (proteínas que son toxinas letales para las bacterias coliformes).

LOS FACTORES DE RESISTENCIA: (FACTOR R) Estos transportan genes que le confieren a la célula huésped resistencia a diferentes agentes antimicrobianos, como los antibióticos. Un sólo plásmido puede transportar genes separados para la resistencia a:

- Estreptomicina.
- Cloranfenicol.
- Tetraciclinas.
- Sulfanamidas.

LOS PLÁSMIDOS PENICILINASA DE LOS ESTAFILOCOCOS: Estos plásmidos transportan un gen que origina que la célula bacteriana produzca una penicilinasa potente, haciéndola resistente por lo tanto a la penicilina. Difieren de los factores **R** en que no son capaces de transmitirse por **conjugación**. Sin embargo, pueden ser transportados de célula a célula por transducción.

Mecanismos genéticos de la resistencia a las drogas antimicrobianas

Las bacterias pueden hacerse resistentes a las drogas antimicrobianas por cualquiera de los siguientes tres mecanismos genéticos:

A.- Por mutación: En todas las poblaciones bacterianas aparecen espontáneamente mutantes resistentes a las drogas. Posteriormente la presencia de la droga sirve como medio selector de las mismas.

B.- Por recombinación: Una vez que aparece una mutación resistente a las drogas, ésta puede ser transferida a otras células por:

- Transformación.
- Transducción.
- Conjugación.

C.- Por adquisición de Plásmidos: Los plásmidos pueden contener genes que le confieren a la célula resistencia a diferentes agentes antimicrobianos.

En las bacterias Gram (-) la transferencia de factores **R** de una célula a otra se realiza por conjugación.

En las bacterias Gram (+) los plásmidos son transportados de células a células por transducción.

2.4. Ingeniería genética

La ingeniería es la aplicación de la ciencia a las necesidades de la sociedad. En años recientes, la ingeniería basada en la genética bacteriana ha transformado a la biología. El avance tecnológico esencial se deriva de la propiedad de las enzimas restrictivas de escisión del DNA en sitios determinados por una secuencia específica de oligonucleótidos para crear fragmentos de restricción. Técnicas relativamente simples permiten la separación de estos fragmentos de acuerdo con su tamaño. La especificidad de nucleótidos requerida para la partición con enzimas restrictivas permite que los fragmentos que contienen genes o partes de genes se unan por covalencia a plásmidos (“vectores”) que más adelante pueden ser insertados en huéspedes bacterianos. Las colonias bacterianas o clonas que contienen genes específicos, pueden ser identificados por hibridación de DNA o RNA, con probadores químicos o radioquímicos. De otro modo productos proteínicos codificados por esos genes, pueden ser reconocidos por su actividad enzimática o por técnicas inmunológicas.

Estos últimos procedimientos han mejorado en forma importante por la notable selectividad que se logra con los anticuerpos monoclonales (anticuerpos que se forman de una sola clona de células, por ejemplo, en un tumor de células plasmáticas como el mieloma), que se unen a determinantes antigénicos específicos en los productos proteínicos. Así las técnicas de ingeniería genética pueden usarse para aislar casi cualquier gen con propiedades bioquímicas identificables.

Los genes aislados pueden usarse para diversos propósitos. La mutagénesis dirigida a un sitio puede identificar y alterar la secuencia de DNA de un gen. De este modo es posible determinar residuos de nucleótidos esenciales para la función genética y, si se desea, modificarlos. Con técnicas de hibridación, el DNA puede utilizarse

como probador que reconoce ácidos nucleicos correspondientes a la secuencia de su propio DNA. Por ejemplo, un virus latente en tejido animal puede detectarse con un DNA probador, aunque no se observe actividad viral. Los productos proteínicos de genes virales aislados, ofrecen grandes oportunidades como vacunas debido a que pueden prepararse sin genes que codifiquen la replicación del ácido nucleico viral. Además, proteínas como la insulina que tienen funciones útiles, pueden obtenerse en cantidades abundantes en bacterias que expresan los genes clonados. Por lo tanto, la ingeniería genética prevé la obtención de proteínas de gran utilidad a bajo costo, permitiendo la producción de hormonas, interferón, antibióticos, nutrientes, proteínas, etc.

También se pronostica la posibilidad de alterar el genotipo de un organismo, o con lo que pudiera obtenerse especies de gran valor económico.

Desgraciadamente mientras unos se empeñan en utilizar la ingeniería genética para el bien de la humanidad otros como los imperialistas, se ocupan de utilizar esta ciencia como un arma biológica.

2.4.1. Esterilización y desinfección

El bienestar y la prosperidad del hombre dependen en gran medida de su dominio sobre las poblaciones microbianas. Muchas prácticas de la vida cotidiana como la depuración del agua, la pasteurización de la leche o la refrigeración de los alimentos, tienen por objeto este importante aspecto del control de las poblaciones microbianas. Las razones principales para la aplicación de estos procedimientos de lucha contra los microorganismos son:

- Prevenir las transmisiones de enfermedades e infecciones.
- Evitar la descomposición y el deterioro de algunos productos.
- Evitar la contaminación.

La inhibición o destrucción de los microorganismos puede conseguirse con el empleo de agentes físicos o de productos químicos. Los procedimientos empleados tienen por fundamento someter los organismos a la acción de un producto químico que les sea nocivo o a una condición física desfavorable. Algunas de estas condiciones se limitan a inhibir el crecimiento y la actividad metabólica, mientras que otras destruyen efectivamente las células. Existe una multitud de agentes que sirven para controlar las poblaciones microbianas, pero la naturaleza de su efecto es variable, y cada uno de ellos tiene limitada su aplicación en la práctica.

2.4.2. La esterilización. Usos y métodos de control

El término esterilización implica el uso de agentes químicos o físicos para eliminar todos los microorganismos viables de un material.

Para realizar la esterilización sobre algún objeto debemos seleccionar el método más adecuado.

Antes de pasar a describir los métodos de esterilización debemos definir algunos términos que usualmente se emplean en relación con los agentes antibacterianos y que son de gran importancia para su futuro vocabulario médico.

BACTERICIDAS:

Agente que mata las bacterias. La acción bactericida difiere de la bacteriostasis únicamente en que es irreversible; es decir, el microorganismo “muerto” no puede reproducirse más, aun cuando sea retirado del contacto con el agente. En algunos casos el agente causa lisis (disolución) de las células; en otros casos las células permanecen intactas e inclusive pueden continuar metabólicamente activas.

BACTERIOSTATICOS:

Agente que inhibe la multiplicación bacteriana. (acción reversible, o sea, se reanuda en cuanto se retira el agente).

ESTERIL:

Libre de vida de cualquier clase. La esterilización puede efectuarse por filtración (en el caso de líquidos o aire) o por tratamiento con agentes microbicidas. Dado que el criterio de muerte para los microorganismos es su incapacidad para reproducirse, el material estéril puede contener células microbianas metabólicamente intactas.

SÉPTICO:

Caracterizado por la presencia de microorganismos perjudiciales en el tejido vivo.

ASÉPTICO:

Caracterizado por la ausencia de microorganismos perjudiciales (la asepsia se consigue adoptando precauciones de esterilización, instrumentos esterilizados, etc.).

ANTISÉPTICO:

Que tienen la propiedad de matar microorganismos perjudiciales en tejidos vivos.

DESINFECTANTE:

Tienen la propiedad de matar organismos infecciosos especialmente en superficies inanimadas. Es demasiado tóxica para aplicarla directamente a los tejidos.

Modos posibles de acción de los agentes antibacterianos

Los agentes antibacterianos actúan de diferentes formas sobre los agentes biológicos, así tenemos:

a. Coagulación de las proteínas (alterando sus propiedades).

b. Rompimiento de la membrana o P.C. Las sustancias que se concentran en la superficie celular pueden alterar las propiedades de la membrana impidiendo su función normal. Los agentes que destruyen o impiden la síntesis de la pared traen consigo la lisis osmótica de la célula.

c. Remoción de grupos sulfhidrilos libres:

Muchas enzimas y coenzimas importantes no pueden funcionar a menos que sus grupos sulfhidrilo terminales permanezcan libres y reducidos.

Los agentes oxidantes interfieren con el metabolismo celular, ligando grupos sulfhidrilos vecinos para dar uniones disulfuro. Los metales pesados también causan daño considerable al combinarse con los grupos sulfhidrilos.

d. Antagonismo químico:

Es la interferencia de un agente químico en la reacción normal entre una enzima específica y su substrato. El antagonismo actúa por combinación con alguna parte de la holoenzima (ya sea con el activador mineral, con la apoenzima proteica, o con la coenzima).

Reversión de la acción antibacteriana

- Por remoción del agente (eliminándolo).
 - Por inactivación del agente.
 - Protegiendo la célula contra la lisis osmótica.
 - Por reversibilidad por substrato.
- **Remoción del agente:** Cuando las células que se encuentran inhibidas por la presencia de un agente bacteriostático son separadas, lavadas completamente en la centrifuga y resuspendidas en un medio de cultivo fresco, reanudan su multiplicación normal.
- **Inactivación del agente:** Los agentes a menudo son inactivados por la adición al medio de una sustancia que se combine con ellos impidiendo su combinación con constituyentes celulares. Por ejemplo, el ion mercúrico puede ser inactivado por la adición al medio de compuestos sulfhidrúlicos como el ácido tioglicólico.

- **Protección contra la lisis osmótica:** La lisis osmótica se puede impedir haciendo el medio isotónico para los protoplastos bacterianos desnudos, para lo cual se requieren concentraciones de 10 a 20 % de sacarosa; en tales condiciones los protoplastos inducidos por la penicilina permanecen viables y continúan creciendo como formas L.
- **Reversibilidad por sustrato:** Cuando un antagonista químico del tipo “análogo” forma un complejo disociante con la enzima, es posible desplazarlo mediante una concentración elevada de sustrato normal; tales casos son llamados de “inhibición competitiva”. La relación entre la concentración del inhibidor y la concentración del sustrato que revierte la inhibición recibe el nombre de índice antibacteriano, el cual generalmente es muy alto (100 a 10,000), indicando una afinidad mucho mayor de la enzima por su sustrato normal.

Agentes físicos

Calor. La aplicación del calor es el método más simple para esterilizar materiales, a condición de que el material por sí mismo no sufra daño por el calor. Una temperatura de 100 °C matará a todas las formas bacterianas en dos a tres minutos, excepto a las esporas; para matar a estas se requiere una temperatura de 121 °C durante 15 minutos.

Calor húmedo

Ebullición en agua: La práctica de la ebullición para la desinfección es muy sencilla. Sólo es necesario recordar que las esporas pueden permanecer vivas aún después de varias horas de ebullición. (Primera desventaja). Otra desventaja es que los objetos mojados son muy propensos a recontaminarse al ser extraídos del recipiente de ebullición.

Vapor libre: (nunca sobrepasa los 100 °C). El vapor libre se emplea algunas veces para realizar la esterilización fraccionada o tinalización. Este método consiste en una exposición al vapor libre durante 30' en tres días sucesivos.

1er. Día: Se eliminan todas las células vegetativas que haya, pero no tiene efecto sobre las esporas. Durante todo el día se les permite germinar.

2do. Día: Se eliminan las células vegetativas formadas.

3er. Día: Medida de precaución.

Vapor a presión: (autoclave).

Una autoclave consiste en una cámara cilíndrica en la que se introduce vapor a presión superior a la atmosférica.

El vapor a presión es más caliente que el agua en ebullición o vapor libre, cuando más alta es la presión del vapor, mayor es la temperatura resultante. Alcanza una temperatura de 121°C = 15 de presión = 1 kg/cm^2 por este método se matan las esporas.

Calor seco

(Se utiliza para esterilizar materiales que deben permanecer secos). Se utilizan temperaturas excesivas aplicadas por largos períodos de tiempo. El calor actúa desnaturalizando las proteínas, los ácidos nucleicos de la célula y fragmentando las membranas celulares.

Flameado: Consiste en someter directamente a la llama de un mechero, el material que se vaya a esterilizar como asas de platino las cuales se llevan a la llama hasta que adquieran un color rojo intenso. Este método se utiliza para esterilizar espátulas, varillas, pipetas, bocas de los tubos, etc.

Horno: El horno consiste en una cámara cerrada en la que circula aire caliente impulsado por un ventilador a fin de lograr una esterilización segura mediante la carbonización de los constituyentes celulares. (160°C a 170°C durante una hora o más)

Objetos que pueden ser esterilizados en Horno:

- Jeringuillas.
- Placas cultivo.
- Pipetas.
- Instrumentos metálicos (espéculos).

Diversos polvos y aceites que no pueden esterilizarse por calor húmedo debido a su impermeabilidad a la humedad ej: Aceite mineral.

Radiaciones

Radiaciones Ultravioletas: Su acción esterilizante se debe a la producción de peróxidos en el medio que a su vez actúan como **agentes oxidantes**.

Estos rayos ultravioletas producen también alteraciones químicas en el ADN celular.

Los rayos ultravioleta se emplean para las infecciones por agentes patógenos en la atmósfera, por ejemplo:

- Quirófanos.
- Salas hospitalarias.
- Cubículos de preparación de medios de cultivo, etc.

Radiaciones ionizantes: (rayos X, gamma, catódicos, beta), (Destruyen ADN), se emplean en:

- Suturas quirúrgicas.
- Guantes.
- Catéteres.
- Envases plásticos.

Filtración

Un medio muy útil de esterilización de líquidos que no pueden ser esterilizados por otros medios como:

- Solución de azúcares.
- Sueros, etc.

Agentes químicos

Los desinfectantes son letales para todo tipo de célula. Debido a su inespecificidad, no es sorprendente que las bacterias desarrollen muy poca resistencia a estos agentes. No obstante, muchos de ellos son demasiado tóxicos para los tejidos y sólo se emplean en superficies y objetos inanimados.

Entre estos agentes químicos tenemos:

Alcoholes

- Fenol y sus derivados.
- Iones de metales pesados.
- Agentes oxidantes.
- Detergentes.
- Derivados del furano.
- Colorantes.
- Gases.

Alcoholes:

Los alcoholes son corrientemente utilizados en la desinfección. Estos agentes tienen propiedades tensoactivas (disolventes de los lípidos) y coagulan las proteínas.

Sin embargo, también producen deshidratación (propiedad que interfiere con sus otras propiedades antimicrobianas).

Debido a su poder deshidratante se prefiere utilizar el alcohol etílico en solución acuosa al 70%. Los concentrados más fuertes 95% ó 100% absoluto son menos efectivos.

Como agente coagulante tiende a combinarse de forma inespecífica con materia orgánica extraña y puede producir un grueso revestimiento de coágulos alrededor de los microorganismos.

Como disolventes de los lípidos es útil para la limpieza de la piel antes de las inyecciones hipodérmicas.

Fenoles:

El fenol y muchos compuestos fenólicos son agentes antibacterianos fuertes. A altas concentraciones desnaturalizan las proteínas, a bajas concentraciones actúan como agentes tenso activos.

Iones de metales pesados: Las sales de mercurio plata y cobre desnaturalizan las proteínas a altas concentraciones, pero son demasiados perjudiciales para los tejidos vivos como para ser usados de esta forma. Comúnmente se emplean a bajas concentraciones y de esta forma actúan combinándose con los grupos sulfhidrilos. El mercurio se puede usar con seguridad externamente, combinándolo con compuestos orgánicos (por ejemplo, mercurocromo, mertiolate). Excepto cuando se utilizan sobre superficies limpias de la piel, estos mercuriales orgánicos son de valor práctico dudoso, ya que se inactivan rápidamente por acción de la materia orgánica extraña.

Agentes oxidantes: Los agentes oxidantes fuertes inactivan a las células oxidando grupos sulfhidrilos libres. Entre estos tenemos:

- Peróxido de H₂.
- Permanganato de K.
- Iodo.
- Cloro.
- Hipoclorito.

- Compuestos que liberan cloro lentamente (cloruro de cal).

Detergentes: Los compuestos que tienen la propiedad de concentrarse en la interfase son llamados agentes tensoactivos o detergentes. La interfase entre la membrana de una célula bacteriana que contiene lípidos y el medio acuoso que la rodea, atraen especialmente a una clase particular de compuestos tensoactivos, de manera específica a los que tienen un grupo liposoluble y uno hidrosoluble. Los hidrocarburos de cadena larga son muy liposolubles, mientras que los iones cargados son muy solubles en agua; un compuesto que posea ambas estructuras puede en esta forma concentrarse en la superficie de la célula bacteriana. Se conocen dos tipos generales de agentes tensoactivos o detergentes: aniónicos y catiónicos.

Detergentes aniónicos: Son los detergentes en los cuales el hidrocarburo de cadena larga tiene carga negativa, estos incluyen a los jabones y productos sintéticos similares a los jabones. Los detergentes sintéticos tienen ventaja de solubilidad y costo sobre los jabones naturales (obtenidos por saponificación de grasas animales). Las sales biliares son notables por el hecho de disolver completamente las células neumocócicas, proporcionando así un medio útil para su identificación.

Detergentes catiónicos: Puede hacerse que el residuo soluble en grasa tenga una carga positiva combinándolo con un átomo de nitrógeno cuaternario.

Agentes alquilantes: Numerosos agentes reaccionan como compuestos en la célula para sustituir átomos lábiles de hidrógeno con radicales alquilo. Los dos agentes de este tipo que se usan comúnmente con fines de desinfección son:

Formaldehído (esporicida) (vendido como solución acuosa al 37%)

Óxido de etileno (este gas se inactiva volviéndolo no explosivo, mezclándolo con CO₂ al 90 % o con un fluorocarburo; el óxido de etileno constituye el desinfectante más confiable disponible para superficies secas. Se usa extensamente en la desinfección de instrumentos quirúrgicos y materiales que deben colocarse en cámaras especiales de vacío con dicho fin).

Colorantes: Actividad específica al manifestarse contra unos agentes y otros no. La incorporación de un colorante a un medio de cultivo lo vuelve selectivo. En pacientes su uso es local pues es rápidamente neutralizado por los sueros y otras proteínas.

CAPÍTULO III: LOS COCOS PIÓGENOS. ESTAFILOCOCOS, ESTREPTOCOCOS, ENTEROCOCOS

Dolores Mirella Cedeño Holguín. MSc. Universidad Estatal del Sur de Manabí

María Lucrecia Casanova Intriago. Md. Hospital Civil Chone

Universidad Técnica de Manabí

Fátima René Medina Pinoargote. MSc. Universidad Técnica de Babahoyo

Las enfermedades infecciosas del hombre, pueden agruparse siguiendo diversos criterios, uno de ellos sería conforme a la forma en que se transmiten o contagian con más frecuencia y de la puerta de entrada más común de los agentes patógenos en el organismo. No obstante, algunos microorganismos tienen la propiedad de afectar más de una parte del organismo y pueden ingresar en éste por diversas vías, siendo éste el caso de los cocos piógenos, microorganismos que comenzaremos a estudiar en el día de hoy.

3.1. Los estafilococos

Son células esféricas Gram. (+), generalmente agrupadas en racimos irregulares, crecen con facilidad en diversos medios de cultivos y son metabólicamente muy activos, fermentan muchos carbohidratos y producen pigmentos que van desde el blanco al amarillo intenso. Algunos son miembros de la flora normal de la piel y mucosas del humano, en tanto que otros provocan supuraciones, formación de abscesos, diversas infecciones piógenas y aún septicemias mortales.

Los Estafilococos patógenos generalmente son hemolíticos y coagulan el plasma y producen diversas enzimas y toxinas extracelulares. Producen también algunas cepas intoxicación alimentaria causada por una enterotoxina termoestable.

Estos microorganismos desarrollan rápidamente cepas resistentes hacia muchos de los agentes antimicrobianos y plantean por esta causa problemas de tratamiento de difícil solución.

El género *Staphylococcus* tiene por lo menos 20 especies. *Staphylococcus aureus* es un microorganismo positivo a la coagulasa y patógeno de gran importancia para el ser humano y es causante de muchas infecciones graves. Los estafilococos negativos a la coagulasa constituyen parte de la flora humana normal. *Staphylococcus epidermidis* produce a veces infecciones de los dispositivos protésicos y de vías urinarias en mujeres jóvenes.

3.2. Morfología e identificación

Cocos Gram. (+) agrupados en racimos.

Los estafilococos son células esféricas de cerca de 1 μm de diámetro distribuidas en grupos irregulares. **En los cultivos líquidos** se encuentran también cocos aislados, en pares, en tétradas y en cadenas. Los cocos jóvenes se tiñen intensamente con la coloración de Gram, al **envejecer** muchas células se vuelven Gram (-). Los estafilococos son microorganismos **NO** móviles, y **NO** forman esporas. Bajo la influencia de ciertas sustancias químicas (por ejemplo, penicilina), experimentan lisis o cambian a formas L, pero **NO** las afectan las sales biliares **NI** la optoquina.

Cultivo y características del crecimiento:

Se desarrollan en medios de cultivo simples, bajo condiciones aerobias o microaerofilicas, aunque algunos son anaerobios obligados (peptococcus). Crecen con mayor rapidez a 37 °C, formando colonias de tamaño mediano y producen pigmentos que van desde el blanco (*S. albus*), hasta el amarillo dorado (*S. aureus*). (forman mejor el pigmento a temperatura ambiental) (20-25 °C).

En agar sangre pueden causar hemólisis completa de los hematíes alrededor de sus colonias. Son capaces de crecer en presencia de 9% de cloruro de sodio. Producen catalasa lo que los distingue de los estreptococos. Fermentan con lentitud muchos carbohidratos produciendo ácido láctico, pero no gas. Son relativamente resistentes a la desecación, el calor (soportan 50 °C durante 30 minutos), son inhibidos por ciertas sustancias como el hexaclorofeno en solución al 3 %.

Muchas cepas aisladas en los hospitales, son resistentes a la penicilina (producen - lactamasa) y pueden ser causa de graves epidemias en ese medio. Para distinguir unas cepas de estafilococos de otras y poder determinar la forma en que transmiten del personal y los pacientes hospitalizados infectados a los pacientes recientemente admitidos, se emplea la tipificación por bacteriófagos.

Toxinas y enzimas

Los estafilococos pueden producir enfermedad tanto por su capacidad para multiplicarse y extenderse con amplitud por los tejidos, como por la producción de sustancias extracelulares. Algunas de estas sustancias son enzimas; otras se consideran toxinas, aunque pueden funcionar como las anteriores. Muchas toxinas se encuentran bajo control genético de los plásmidos; Algunas están incluso bajo control tanto cromosómico como extracromosómico. En otros casos no se ha podido definir aun bien el mecanismo del control genético.

Catalasa: Convierte el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno.

Coagulasa: Coagula el plasma oxalatado o citratado en presencia de un factor contenido en el suero humano. Se considera que la producción de coagulasa es sinónimo del potencial invasor patógeno.

Exotoxina: Material filtrable, termolábil, letal para los animales por inoculación parenteral, que provoca **necrosis de la piel** y contiene diversas hemolisinas solubles que pueden ser separadas por electroforesis, así tenemos:

- **Hemolisina alfa:** (es una proteína heteróloga que puede producir lisis de los eritrocitos y lesionar las plaquetas y es probablemente idéntica a los factores mortales y dermonecróticos de la exotoxina. Puede tener también una acción muy poderosa sobre el músculo liso vascular).
- **Hemolisina beta:** (degrada a la esfingomielina y es tóxica para muchas clases de células, incluso los eritrocitos humanos).
- **Hemolisina gamma.**
- **Hemolisina delta.**

Leucocidina: Mata a los leucocitos de diversas especies animales. No está clara su función en la patogenia, porque los estafilococos patógenos no matan quizás a los leucocitos y pueden ser fagocitados con tanta eficacia como las variedades no patógenas. Sin embargo, son capaces de lograr una multiplicación intracelular muy activa, en tanto que los microorganismos no patógenos tienden a morir dentro de las células. Los anticuerpos contra la leucocidina pueden desempeñar una función en la resistencia a las infecciones recurrentes por estafilococos.

Enterotoxinas: Hay por lo menos 6 toxinas solubles designadas de la A a la F producidas por casi 50 % de las cepas de *S. aureus*. Estas enterotoxinas son termoestables (resisten la ebullición durante 30 minutos) y resistentes a la acción de las enzimas intestinales. Causas importantes del envenenamiento con alimentos, las produce *S. aureus* cuando crece en alimentos constituidos por carbohidratos y proteínas. Quizás el gen de la producción de enterotoxina se encuentre sobre el cromosoma, pero puede haber un plásmido que lleve la proteína y que regule la producción activa de esta toxina. La ingestión de 25 µg de enterotoxina B por el hombre da por resultado vómitos y diarreas. Probablemente el efecto emético de la enterotoxina sea el resultado de la estimulación del sistema nervioso central (centro del vómito) una vez que la toxina ha actuado sobre los receptores neurales del intestino. Las enterotoxinas se pueden investigar por pruebas de precipitina (difusión en gel).

Hialuronidasa: Enzima que desdobra el ácido hialurónico, (constituyente importante de la sustancia intracelular del tejido conjuntivo).

Estafiloquinasa: Transforma el plasminógeno en plasmina (enzima proteolítica que digiere a la fibrina y otras proteínas).

- Proteinasas.
- Lipasas.
- Lactamasas.

Toxina exfoliativa está constituida por lo menos por dos proteínas que producen la descamación generalizada, que bajo el control de un plásmido causa el **síndrome de la piel escaldada (formación de vesículas)**. Hay anticuerpos específicos que protegen al sujeto contra la acción exfoliativa de la toxina.

Otras toxinas postuladas responsables del **síndrome del shock por intoxicación** se ven en mujeres que utilizan **tampones** durante la menstruación. La mayor parte de las cepas de *S. aureus* aisladas de pacientes con síndrome de shock tóxico, producen una toxina llamada toxina 1 del síndrome de shock tóxico (TSST-1), (“toxic shock syndrome toxin 1”), que es la misma que la enterotoxina F y la exotoxina C pirógena. En el hombre esta toxina produce fiebre, shock, y afección de muchos sistemas, incluso erupción cutánea descamativa; no se cuenta con pruebas directas de que la toxina sea la única causa del síndrome de shock tóxico. En los conejos la TSST-1 produce fiebre, aumento de la sensibilidad a los efectos de los lipopolisacáridos bacterianos y otros efectos biológicos semejantes a los del síndrome de shock tóxico, pero no ocurren en este animal, ni la erupción cutánea ni la descamación.

3.3. Patogenia

Los estafilococos especialmente epidermidis, forman parte de la flora normal de la piel humana y de los sistemas respiratorio y digestivo. De 40 a 50 % de los seres humanos son portadores nasales de *S. aureus* también se les encuentra con regularidad en el aire y en las ropas personales, las ropas de cama y otros fómites de los ambientes humanos.

La patogenicidad de una cepa dada de estafilococo es la resultante de los factores y toxinas extracelulares antes mencionadas, aunadas a las propiedades invasivas de la cepa.

En un extremo tenemos la intoxicación alimentaria, atribuible a la ingestión de la enterotoxina preformada, en el otro extremo, la bacteriemia y abscesos estafilocócicos diseminados en todos los órganos. Es manifiesta la contribución potencial de las diversas sustancias extracelulares a la patogenia a causa de la naturaleza de sus acciones individuales.

Las cepas invasoras y patógenas de *S. aureus* tienden a producir coagulasa, pigmento amarillo, y a ser hemolíticas. Los estafilococos no invasores y no patógenos, como *S. epidermidis*, tienden a ser negativos a la coagulasa y no hemolíticos. Es raro que estos microorganismos produzcan supuración, pero pueden infectar a las prótesis ortopédicas o cardiovasculares. *S. saprophyticus* es, de manera típica, un microorganismo no pigmentado, resistente a la novobiocina y no hemolítico; produce infecciones de las vías urinarias en mujeres jóvenes.

Diagnóstico de laboratorio

Muestras:

- Exudados superficiales recogidos con hisopos.
- Pus.
- Sangre para hemocultivo.
- Aspirado traqueal.
- LCR.

(en fin, las muestras dependen de la localización del proceso).

- **Observación microscópica:** (no es posible distinguir entre los microorganismos saprofitos y los patógenos).
- **Cultivo en agar sangre:** Se aprecian colonias típicas en 18- 24 horas de incubación a 37°C donde puede observarse la hemólisis y la pigmentación, aunque éstas en ocasiones pueden aparecer tardíamente incubando a temperatura de laboratorio. Las muestras que contaminadas con flora mixta se pueden cultivar en medios que contengan 7,5 % de NaCl; la sal inhibe a la mayor parte de los otros microorganismos normales, pero no a *S. aureus*.
- **Prueba de la coagulasa:** Se mezcla plasma de conejo (o humano) citratado y diluido 1:5 con un volumen igual de caldo de cultivo y se incuba a 37°C. Se incluye como testigo un tubo con plasma mezclado con caldo estéril. Si se forman coágulos en plazo de 1 a 4 horas, la prueba será positiva. Todos los estafilococos positivos a la coagulasa se consideran patógenos para el hombre. Las infecciones de los dispositivos protésicos pueden ser causados por *S. epidermidis* negativa a la coagulasa.
- **Prueba de la catalasa:** Se coloca una gota de solución de peróxido de hidrógeno en una lámina y se añade a la misma una pequeña cantidad de

material bacteriano desarrollado. La formación de burbujas (liberación de oxígeno), indica prueba positiva. Esta puede realizarse también vertiendo solución de peróxido de hidrógeno sobre el crecimiento en placa.

- **Prueba de la termonucleasa: (DNAasa).**
- **Cultivo en telurito:** (puede sustituir la coagulasa).
- **Pruebas serológicas y de tipificación:** Se pueden identificar anticuerpos contra el ácido teicoico de las infecciones profundas prolongadas (por ejemplo, endocarditis estafilocócica), y a veces las distinguen del cuadro de bacteriemia estafilocócica, pero tienen poco valor práctico. Son útiles los patrones de sensibilidad a los antibióticos para investigar las infecciones por *S. aureus* y para determinar si los *S. epidermidis* de los hemocultivos representan bacteriemia causada por la misma cepa, sembrada desde un mismo nido de infección. La tipificación por bacteriófagos es útil en epidemiología en los brotes graves de infecciones por *S. aureus* como podría suceder en un hospital.

3.4. Los estreptococos

Los estreptococos son bacterias esféricas Grampositivas que forman, de modo característico, pares o cadenas durante el crecimiento. Se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, algunos son miembros de la flora normal del hombre, en tanto que otros están asociados a importantes enfermedades humanas atribuibles en parte a la infección por el propio microorganismo y en parte a una sensibilización hacia ellos. Producen una gran variedad de sustancias y enzimas extracelulares.

Los estreptococos son un grupo heterogéneo de bacterias y ningún sistema es suficiente para clasificarlos. Veinte especies que incluyen *Streptococcus pyogenes* (grupo A), *Streptococcus agalactiae* (grupo B), y enterococos (grupo D), se caracterizan por combinaciones de diversas peculiaridades: características del crecimiento de la colonia, patrones de hemólisis en agar sangre (hemólisis alfa, beta o ausencia de la misma), composición antigénica de sustancias de la pared celular específica de grupo y reacciones bioquímicas. Los tipos de *Streptococcus pneumoniae* (neumococos) se clasifican adicionalmente por la composición antigénica de los polisacáridos capsulares.

Las enfermedades estreptocócicas y sus complicaciones supurativas o no, constituyen un problema que afecta frecuentemente a la población escolar, adolescentes y adultos jóvenes.

Universalmente se han realizado estudios en los cuales se señala que el diagnóstico, tratamiento correcto y temprano de las infecciones estreptocócicas constituyen la actividad esencial en la prevención de la cardiopatía reumática.

Forma e identificación:

- **Microorganismos típicos:** Los cocos individuales son esféricos u ovoides y se disponen en cadenas. La longitud de la cadena varía mucho y está condicionada por factores ambientales. Los estreptococos son Grampositivos, sin embargo, a medida que el cultivo envejece y mueren las bacterias, pierden su positividad y aparecen como Gramnegativos; este hecho puede ocurrir después de incubación toda la noche. Algunos estreptococos elaboran como sustancia capsular un polisacárido comparable al que se encuentra en los neumococos. La mayor parte de las cepas de los grupos A, B y C, poseen cápsulas compuestas de ácido hialurónico. Estas estructuras son más fácilmente apreciables en cultivos jóvenes. Impiden la fagocitosis. La pared celular del estreptococo contiene proteínas (antígenos M, T, R,), carbohidratos (específicos de grupo) y peptidoglucano. Los pilis semejantes a vellos, sobresalen a través de la cápsula de los estreptococos del grupo A. Los pilis consisten en parte, de proteína M y están cubiertos con ácido lipoteicoico. Este último es importante en la unión de los estreptococos de las células epiteliales.
- **Cultivo:** La mayor parte de los estreptococos crecen en medios sólidos formando colonias discoidales de 1 a 2 mm de diámetro. Las cepas capsuladas del grupo A frecuentemente dan lugar a colonias mucoides. Peptoestreptococcus se desarrolla bajo condiciones anaerobias. La mayoría de los estreptococos crecen en medios formando hemólisis, así tenemos:
 - **Hemolíticos** (Destrucción completa de los hematíes alrededor de las colonias, transparentes).
 - **Alfa hemolíticos** (Destrucción parcial de los hematíes, es verdosa).
 - **Gamma hemolíticos** (Cuando NO existe hemólisis).
 - **Características del crecimiento:** La energía es obtenida fundamentalmente de la utilización de azúcares. El crecimiento de los estreptococos tiende a ser pobre, tanto en medios sólidos como en caldo, a menos que se les enriquezca con sangre o líquidos tisulares diversos. Los requerimientos nutricionales varían ampliamente para las distintas especies. Las especies patógenas

para el hombre son más estrictas ya que requieren la presencia de diversos factores de crecimiento. El crecimiento y la hemólisis se incrementa en presencia de CO₂ al 10%.

- **Variación:** Las variantes de una misma cepa de estreptococo pueden dar lugar a colonias con diferencias morfológicas; esto es particularmente marcado entre cepas del grupo A, las cuales pueden dar lugar a colonias enmarañadas y a colonias lustrosas. Las colonias enmarañadas están formadas por microorganismos que elaboran mucha proteína M; tales microorganismos tienden a ser virulentos y a ser relativamente poco sensibles a la fagocitosis de los leucocitos humanos. Las colonias lustrosas tienden a producir poca proteína M y a menudo son avirulentas.

3.5. Estructura antigénica

Los estreptococos hemolíticos pueden ser clasificados serológicamente en grupos de la A a la Z y algunos grupos pueden ser subdivididos en tipos. Se encuentran varias sustancias antigénicas.

- **Antígeno específico de grupo de la pared celular: (Carbohidrato C),** Sustancia que proporciona la base para el agrupamiento serológico (A- Z), según Rebeca Lancefield.
- **Proteína M:** Sustancia relacionada íntimamente con la virulencia de los estreptococos del grupo A.
- **Sustancia T:** Permite la diferenciación de ciertos tipos de estreptococos por aglutinación con antisueros específicos. Este antígeno NO se relaciona con la virulencia.
- **Proteína R:** Otro antígeno más de superficie.
- **Nucleoproteínas:** Posiblemente forme la mayoría del cuerpo celular de los estreptococos (se les denomina también **sustancias P**).

Toxinas y enzimas

Más de 20 productos extracelulares antigénicos son elaborados por el grupo A de estreptococos entre ellos tenemos:

Estreptoquinasa: (Fibrinolisisina), transforma el plasminógeno del suero humano en plasmina, enzima proteolítica que digiere a la fibrina y otras proteínas. Este proceso de digestión puede ser interferido por inhibidores no específicos presentes en el suero, así como por un anticuerpo específico, la antiestreptocinasa. La estreptocinasa, se

ha administrado por vía endovenosa para el tratamiento de embolias pulmonares y de trombosis venosas.

Estreptodornasa: (Desoxirribonucleica estreptocócica), despolimeriza el ADN. Los exudados purulentos generalmente deben su viscosidad a las desoxirribonucleoproteínas. Se utilizan mezclas de estreptocinasas y estreptodornasas en el “desbridamiento enzimático”, dichas enzimas ayudan a fluidificar exudados y facilitan la remoción de pus y de tejido necrótico, con lo que los antimicrobianos tienen mejor acceso a las lesiones, recuperándose con mayor rapidez las superficies infectadas. Un anticuerpo a las Dnasas, se desarrolla después de las infecciones estreptocócicas, especialmente después de infecciones cutáneas con pioderma.

Hialuronidasa: Enzima que desdobra el ácido hialurónico, (constituyente importante de la sustancia intercelular del tejido conjuntivo). Así pues, la hialuronidasa favorece la diseminación de los microorganismos infectantes (factor de diseminación). Las hialuronidasas son antigénicas y específicas para cada bacteria o tejido del cual se obtengan; después de una infección debida a un organismo productor de hialuronidasa se encuentran anticuerpos específicos en el suero del paciente.

Toxina erotógena: Es soluble y es destruida mediante la ebullición durante 1 hora. Provoca el exantema que se produce en la escarlatina. Solamente las cepas que elaboran esta toxina, producen esta enfermedad. La toxina es elaborada solamente por estreptococos lisígenos. Las cepas desprovistas del fago moderado NO producen la toxina. Un estreptococo NO toxigénico, después de la conversión lisógena, producirá la toxina eritrógena.

Difosfopiridin-nucleotidasa: Enzima relacionada con la capacidad del microorganismo para matar leucocitos. Algunas cepas producen proteinasas y amilasas.

Hemolisinas: Capacidad de lisar los hematíes in vitro en diverso grado. Los Estreptococos β hemolíticos del grupo A producen 2 hemolisinas:

Estreptolisina “O” con actividad hemolítica solamente cuando está reducida.

Estreptolisina “S” responsable de la hemólisis que se produce en las placas de agar sangre.

Clasificación:

Durante muchos años, la clasificación de los estreptococos en categorías mayores se ha basado en una serie de observaciones:

Morfología de la colonia y reacciones hemolíticas en agar sangre.

Especificidad serológica de la sustancia específica de grupo de la pared celular (clasificación de Lancefield) y de otros antígenos capsulares o de la pared celular.

Reacciones bioquímicas y resistencia a factores físicos y químicos.

3.6. Características ecológicas

En la década de los 80, se usaron pruebas bioquímicas adicionales y de genética molecular para estudiar las relaciones de especies de estreptococos entre sí. Combinación de los métodos anteriores han permitido la clasificación de estreptococos con propósitos de conveniencia clínica y epidemiológica, pero es están introduciendo nuevos métodos que han hecho evolucionar la división de estreptococos con el resultado de que se describen varias clasificaciones. En algunos casos nombres de especies diferentes se han usado para describir los mismos microorganismos y en otros ejemplos, algunos miembros de la misma especie se han incluido en otra especie o clasificado por separado. Por ejemplo, ahora el género *Enterococcus* incluye algunas especies que antes pertenecían a estreptococos del grupo D. Por lo tanto, la clasificación de los estreptococos se resume como un enfoque lógico. Así tenemos:

A. Hemólisis: (después de incubar toda la noche en agar con sangre de carnero al 5 %).

- Estreptococos hemolíticos (Sólo las que muestran hemólisis beta).
- Estreptococos no hemolíticos (Las de alfa hemólisis).

Sin embargo, es más práctico considerar estreptococos y enterococos como beta hemolítico, alfa hemolítico y no hemolítico. La clasificación del patrón hemolítico se usa de manera primaria con estreptococos y no para otras bacterias patógenas que en forma típica producen diversos tipos de hemolisinas.

B. Sustancias específicas de grupo (clasificación de Lancefield). Extractos con ácido caliente o enzimas contienen carbohidratos específicos de grupo. Estos carbohidratos dan reacciones de precipitina con antisueros específicos que facilitan su clasificación en A-H y K-Z. En general la tipificación se hace sólo en los grupos A-D, F y G que son patógenos para el hombre y para los que hay reactivos que permiten la identificación usando aglutinación simple o reacciones cromáticas.

C. Polisacáridos capsulares: La especificidad antigénica de los polisacáridos capsulares, se usa para clasificar *S. pneumoniae* en 83 tipos (American System) y para tipificar estreptococos del grupo B (*S. agalactiae*).

D. Reacciones bioquímicas: Las pruebas bioquímicas incluyen fermentación de azúcares, presencia de enzimas y susceptibilidad o resistencia a ciertos agentes químicos. Las pruebas bioquímicas con frecuencia se usan para clasificar estreptococos después del crecimiento de las colonias y cuando ya se han observado sus propiedades hemolíticas. Se prefieren para especies que en forma típica no reaccionan con las preparaciones de anticuerpos comunes para sustancias específicas de grupo, grupos A, B, C, F y G. Por ejemplo, los estreptococos viridans son alfa hemolítica o no hemolítica y no reaccionan con los anticuerpos de uso común para la clasificación de Lancefield. La separación de estreptococos en especies, requieren una serie de pruebas bioquímicas.

3.7. Clasificación de estreptococos de interés médico particular

Los estreptococos y Enterococos siguientes tienen importancia médica. (se incluyen los nombres de especies menos comunes para aclarar clasificaciones previas y actuales).

- **Streptococcus pyogenes:** (La mayor parte de los estreptococos que contienen antígeno grupo A son *Streptococcus pyogenes* y β hemolíticos. *Streptococcus pyogenes* es el patógeno humano principal relacionado con invasión local y generalizada y trastornos inmunitarios post estreptocócicos).
- **Streptococcus agalactiae:** (Son estreptococos grupo B miembros de la flora normal de vías genitales y una causa importante de sepsis neonatal y meningitis).
- **Grupos C y G:** (estos estreptococos se encuentran en ocasiones en la nasofaringe y pueden causar sinusitis, bacteriemia o endocarditis).
- **Enterococcus faecalis (E. faecium, E. durans):** (los enterococos reaccionan con antisueros grupo D, forman parte de la flora intestinal normal).
- **Streptococcus bovis:** (Están dentro de los estreptococos grupo D no enterocócicos, forman parte de la flora intestinal, en ocasiones causan endocarditis).
- **Streptococcus anginosus:** (Otros nombres de especie para este estreptococo son *S. milleri*, *S. intermedius*, y *S. constellans*. Forman parte de la flora normal. Pueden clasificarse como estreptococos viridans).
- **Streptococos grupo N:** (Sólo en raras ocasiones son patógenos para el hombre).

- **Estreptococos E, F, G, H, y K-Z:** (Estos estreptococos se encuentran de manera primaria en animales con ciertas excepciones ya mencionadas).
- **Streptococcus pneumoniae:** (se estudiarán más adelante y de forma separada).
- **Streptococcus viridans:** (Incluyen *S. mitis*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. sanguis* (grupo H) y otros. Son los miembros más abundantes de la flora normal de vías respiratorias superiores y tienen importancia en la conservación de la salud de las membranas mucosas de esta área). Pueden alcanzar el torrente sanguíneo cuando ocurre un traumatismo y son causa principal de endocarditis en válvulas cardíacas anormales. Algunos estreptococos viridans (*S. mutans*, por ejemplo) sintetizan polisacáridos grandes como dextranos y levanos a partir de sacarosa y contribuyen de manera importantísima a la génesis de la caries dental).
- **Peptoestreptococos:** (numerosas especies) (Proliferan sólo bajo condiciones anaerobias o microaerofílicas y en forma variable producen hemolisinas. Son parte de la flora normal de la boca, vías respiratorias superiores, intestino y vías genitales femeninas. A menudo participan con muchas otras especies bacterianas en infecciones anaerobias mixtas en abdomen, pelvis, pulmón o cerebro).

Patogenia

A la infección por estreptococos están unidos una diversidad de procesos patológicos. Influyen grandemente en el cuadro clínico de la enfermedad las propiedades biológicas del organismo infectante, la naturaleza de la respuesta del huésped, así como la puerta de entrada de la infección. Las infecciones pueden ser divididas en varias categorías.

E. Enfermedades atribuibles a la invasión por Estreptococos hemolíticos del grupo A (*S. pyogenes*)

Erisipela

- Fiebre puerperal.
- Infección generalizada.

F. Atribuibles a la infección local

- Faringitis estreptocócica.
- Pioderma estreptocócica (Impétigo).

G. Endocarditis infecciosa

Endocarditis bacteriana aguda (válvulas cardíacas normales o anormales).

Endocarditis bacteriana subaguda (válvulas cardíacas anormales).

H. Otras infecciones. Diversos estreptococos, particularmente los Enterococos, provocan a menudo infecciones del aparato urinario. En el aparato genital normal de la mujer y en la boca, así como en el intestino, e encuentran estreptococos anaerobios (Peptoestreptococos), éstos pueden provocar lesiones supurativas por si mismas o con otros anaerobios, particularmente con Bacteroides. Pueden presentarse tales lesiones en las heridas, en las mamas, en la endometritis post parto, después del rompimiento de alguna víscera abdominal, o en las supuraciones crónicas del pulmón; tales supuraciones tienen generalmente un olor fétido. Diversos estreptococos (grupos C-L y O) que normalmente se encuentran en animales inferiores pueden también provocar infecciones ocasionales en el hombre. Los estreptococos del grupo B son parte de la flora vaginal normal en 5 a 25 % de las mujeres. La infección con estos estreptococos durante el primer mes de vida puede causar sepsis fulminante, meningitis o síndrome de insuficiencia respiratoria. Al parecer la ampicilina intravenosa intraparto evita la colonización de lactantes cuyas madres transportan estreptococos del grupo B.

I. Enfermedades post estreptocócicas

- Fiebre reumática.
- Glomerulonefritis.

Diagnóstico de laboratorio

- **Muestras:** Las muestras que se van a obtener dependen de la naturaleza de la infección estreptocócica. Se obtiene un frotis de garganta, pus o sangre para cultivo. El suero sirve para la determinación de anticuerpos.
- Frotis teñidos.
- Cultivos.
- Pruebas de detección de antígenos.
- Pruebas serológicas.

Inmunidad:

La resistencia contra las enfermedades estreptocócicas es específica de tipo, pero **NO** de grupo, así pues, el huésped que se ha recuperado de una infección por estreptococo del grupo A tipo M, es relativamente resistente a la infección por

estreptococos del mismo tipo, pero es completamente sensible a las infecciones por otros grupos A. La proteína M interfiere en la fagocitosis, pero los estreptococos son aniquilados por los leucocitos humanos en presencia de un anticuerpo específico de tipo contra la proteína M.

La inmunidad para la toxina eritrógena se basa en la presencia de antitoxina en la sangre. Esta inmunidad antitóxica protege contra el exantema de la escarlatina, pero carece de efecto sobre la infección por estreptococos.

El anticuerpo contra la estreptolisina "O" (antiestreptolisina "O") se desarrolla después de infecciones; bloquea la hemólisis por estreptolisina "O", pero no indica inmunidad. Títulos altos (>250 unidades) indican infecciones recientes o repetidas y se encuentran con mayor frecuencia en individuos reumáticos que en quienes padecen infecciones estreptocócicas no complicadas.

Neumococos

Los neumococos (*S pneumoniae*) son diplococos Grampositivos, frecuentemente lanceolados y agrupados en cadenas; poseen una cápsula formada por polisacáridos que permite una fácil tipificación con antisueros específicos. Pueden ser lisados con facilidad por agentes tensoactivos, por ejemplo, las sales biliares. Probablemente los agentes tensoactivos eliminan o inactivan a los inhibidores de las autolisinas de la pared microbiana. Estos microorganismos son habitantes del aparato respiratorio superior del hombre y pueden causar neumonía, sinusitis, otitis, bronquitis, bacteriemia, meningitis y otros procesos infecciosos.

Morfología e identificación

- A. Microorganismos típicos:** Los típicos diplococos lanceolados Grampositivos se observan generalmente en cultivos jóvenes. En esputo o pus se observan también cocos aislados y formando cadenas. Con la edad, los microorganismos se vuelven Gramnegativos y tienden a lisarse espontáneamente. La autólisis de los neumococos es notablemente acelerada por los agentes tensoactivos.
- B. Cultivo:** Se desarrollan en medios de cultivo enriquecidos con sangre. Forman colonias pequeñas y redondas, al principio cupuliformes, que desarrollan más tarde una meseta central con bordes elevados, rodeadas de una zona de hemólisis incompleta verdosa (hemólisis alfa). Son facultativos. Se diferencian de otros cocos hemolíticos por su solubilidad en bilis, inhibición por la optoquina y su patogenicidad para el ratón por vía intraperitoneal.

- C. Características del crecimiento:** La mayor parte de la energía es obtenida por la fermentación de la glucosa, fenómeno que se acompaña de una rápida producción de ácido láctico, lo cual limita el crecimiento; la neutralización intermitente con álcalis, da por resultado un crecimiento masivo.
- D. Variación:** Cualquier cultivo de neumococos contiene unos cuantos microorganismos incapaces de producir polisacáridos capsulares, los cuales dan lugar a colonias rugosas; sin embargo, la mayor parte son bacterias productoras de polisacáridos, dando lugar a colonias lisas. Puede lograrse que las formas rugosas predominen, haciendo crecer el cultivo en presencia de suero antipolisacárido específico de tipo.
- E. Transformación:** Cuando los neumococos de un tipo que no produce cápsulas de polisacáridos crecen en presencia de DNA extraído de un tipo de neumococo que sí la forma, se producen neumococos encapsulados del último tipo. Se han llevado a cabo reacciones de transformación similares que incluyen cambios en la resistencia a fármacos.

3.8. Estructura antigénica

Estructura de los componentes: El polisacárido capsular es inmunológicamente diferente y permite la diferenciación en más de 80 tipos serológicos. El polisacárido es un antígeno que provoca inicialmente una respuesta de células B. la porción somática del neumococo contiene una proteína que es característica de cada tipo y un carbohidrato específico de grupo que es común para todos los neumococos. El carbohidrato puede ser precipitado por la proteína C reactiva, sustancia que se encuentra en el suero de algunos pacientes.

Reacción de hinchazón o quellung: Cuando se mezclan neumococos de un tipo determinado con suero antipolisacárido específico del mismo tipo (o con antisuero polivalente) en un portaobjetos, la cápsula se hincha notablemente. Esta reacción es útil para la identificación rápida y la tipificación del microorganismo, ya sea en esputo o en cultivos. Un suero polivalente que contiene anticuerpos a más de 80 tipos de neumococos (“omnisuero”), es buen reactivo para determinación microscópica rápida de la posible presencia de neumococos en esputo fresco.

Patogenia

La patogenicidad del microorganismo depende de sus propiedades invasivas y está relacionada con la presencia de su cápsula, que impide la ingestión de los organismos encapsulados por los fagocitos.

Tipos de neumococos: En los adultos, los tipos 1 al 8 son responsables de cerca de 75 % de los enfermos de neumonía neumocócica y de más de la mitad de todas las muertes en bacteriemias neumocócicas, en los niños, los tipos 6, 14, 19, y 23, son la causa más frecuente.

Producción de enfermedad: Los neumococos producen enfermedad por su capacidad de multiplicación en los tejidos; no producen toxinas de significación, aunque se habla de la neumolisina "O", de propiedades similares a la estreptolisina "O". La virulencia del microorganismo es función de su cápsula, la cual previene o retarda la ingestión de células encapsuladas por los fagocitos. Un suero que contenga anticuerpos contra polisacárido específico de tipo protege contra la infección; si tal suero es absorbido con el polisacárido específico de tipo, se pierde su poder protector. Los animales o seres humanos inmunizados con un tipo dado de polisacárido neumocócico son después inmunes a este tipo y poseen anticuerpos precipitantes y opsonizantes para este tipo de polisacárido. Se ha planteado también la presencia de enzimas como la **neuroaminidasa** para los neumococos que colonizan el tracto respiratorio y las **proteasas** que actúan degradando las inmunoglobulinas (IgA secretora, IgG e IgM) se piensa que estas enzimas desempeñan un papel importante al facilitar la colonización bacteriana sobre las superficies mucosas.

Pérdida de la resistencia natural: La mucosa respiratoria normal debe poseer gran resistencia natural contra el neumococo, ya que entre 40 y 70 % de las personas normales son en una u otra época de su vida portadoras de neumococos virulentos. Entre los factores que disminuyen la resistencia natural y predisponen a la infección neumocócica son:

- **Anormalidades del aparato respiratorio:** Otras infecciones (por ejemplo, virosis) que lesionan las células superficiales; acumulaciones anormales de moco (por ejemplo, en alergias, asma), lo cual protege a los neumococos de la fagocitosis; obstrucción bronquial (por ejemplo, en la atelectasia) y lesiones del aparato respiratorio debidas a irritantes que alteran el manto mucociliar.
- **Intoxicación alcohólica o medicamentosa,** que abate la actividad fagocitaria, deprime el reflejo de la tos y facilita la aspiración de material extraño.
- **Dinámica circulatoria anormal** (por ejemplo, en la congestión pulmonar, insuficiencia cardíaca).

- **Desnutrición, debilidad general, anemia de células falciformes, hiperesplenismo, nefrosis, deficiencia del complemento.**

Generalmente constituyen una infección de tipo endógeno, ya que los factores predisponentes son más importantes en la producción de la enfermedad que la adquisición del microorganismo.

El neumococo es el principal agente causal de neumonías bacterianas. También produce: Meningitis, Septicemias, Otitis, Sinusitis.

Diagnóstico de laboratorio

Se extrae sangre para cultivo y se obtiene esputo para la demostración de neumococos en frotis y cultivo. Es impráctico buscar anticuerpos en el suero. El esputo puede ser examinado de diferentes maneras.

Frotis teñidos: Los frotis hechos a partir del esputo rojo herrumbroso, teñidos por la técnica de Gram, muestran organismos típicos, muchos neutrófilos polimorfonucleares y bastantes eritrocitos.

Pruebas de hinchazón de la cápsula: El esputo fresco emulsionado mezclado con antisuero, da hinchamiento de las cápsulas (reacción de hinchazón) para identificación de neumococos y posible tipificación. El exudado peritoneal también se puede usar para pruebas de hinchamiento de la cápsula.

Cultivo: El esputo se cultiva en agar sangre y se incuba en CO₂.

Inyección intraperitoneal de esputo a ratones de laboratorio: Los animales mueren en 18 a 24 horas; la sangre del corazón da un cultivo puro de neumococos. Esta forma de cultivo para neumococos es muy sensible pero rara vez se utiliza porque es necesario conservar una colonia de ratones.

La meningitis neumocócica, deberá diagnosticarse mediante examen y cultivo rápido del L.C.R.

Inmunidad

La inmunidad a la infección por neumococos es específica de tipo y depende de los anticuerpos al polisacárido capsular y de lo intacto de la función fagocitaria. En las vacunas pueden inducir anticuerpos contra los polisacáridos capsulares.

Las Neisserias

Las enfermedades infecciosas del hombre, pueden agruparse siguiendo diversos criterios, uno de ellos sería conforme a la forma en que se transmiten o contagian con más frecuencia, (por ejemplo, por contacto sexual) y de la puerta de entrada

más común de los agentes patógenos en el organismo. No obstante, algunos microorganismos tienen la propiedad de afectar más de una parte del organismo y pueden ingresar en éste por diversas vías, siendo éste el caso de las neisserias.

La familia Neisseriaceae incluye a las especies de *Neisseria* y *Branhamella catarrhalis*, lo mismo que a las especies de *Acinetobacter* y de *Kingella* y *Moraxella*. Las Neisserias son un grupo de cocos Gram (-) que se agrupan en parejas. Algunos son habitantes normales del aparato respiratorio, otros, gonococo y meningococo, producen importantes patologías humanas y su localización característica es intracelular (dentro de los leucocitos polimorfonucleares). Gonococos y meningococos están estrechamente relacionados, tienen una homología de DNA de 70 %, y se distinguen con algunas pruebas de laboratorio y por sus características específicas: los meningococos tienen cápsula de polisacáridos en tanto que los gonococos no, y los primeros rara vez tienen plásmidos en tanto que cuentan con ellos la mayor parte de los gonococos. Lo que es más importante, ambas especies se distinguen por las presentaciones clínicas ordinarias de las enfermedades que producen: de manera típica los meningococos se encuentran en las vías respiratorias superiores y producen meningitis, en tanto que los gonococos producen infecciones genitales. Sin embargo, se sobreponen los espectros clínicos de las enfermedades producidas por gonococos y meningococos. El estudio de las neisserias patógenas, en especial los gonococos, ha contribuido en gran medida a los conocimientos obtenidos sobre las bases moleculares de las enfermedades causadas por agentes patógenos de las mucosas.

3.9. Morfología e identificación

Microorganismos típicos: Diplococos Gram (-) arriñonados, inmóviles con un diámetro aproximado de 0,8 mm.

Cultivo: A las 48 horas de cultivo en medios enriquecidos (por ejemplo, Mueller Hinton modificado de Thayer- Martín), gonococos y meningococos forman colonias mucoides, convexas, resplandecientes y elevadas, con un diámetro de 1 a 5 mm. Las colonias son transparentes u opacas, no pigmentadas y no hemolíticas.

Características del crecimiento:

- Aerobios facultativos.
- Producen indofenoloxidas.
- Fermentan diferentes carbohidratos y producen ácido, pero no gas, y los patrones de fermentación de los mismos son un medio para distinguirlas.

- Los no patógenos (*sicca*, *flava*, *catarrhalis* etc.), crecen en medios de cultivo simples a temperatura ambiente.
- Los patógenos (*gonorrhoeae*, *meningitidis*), necesitan:
 - Atmósfera húmeda y rica en CO₂.
 - Temperatura adecuada (35- 37°C).
 - Crecen mejor en medios que contienen sustancias orgánicas complejas como sangre calentada (agar chocolate), hemina, proteínas animales.
 - El crecimiento se inhibe por la acción de ciertos constituyentes tóxicos del medio, por ejemplo, ácidos grasos o sales.
 - Mueren con rapidez a causa de la desecación, luz, sol, calor húmedo y muchos desinfectantes.
 - Producen enzimas autolíticas que dan por resultado tumefacción y lisis rápida in vitro a 25°C y a PH alcalino.

Neisseria gonorrhoeae

Los gonococos fermentan sólo la glucosa y difieren de otras neisserias desde el punto de vista antigénico. Suelen producir colonias más pequeñas que otras neisserias. Los gonococos aislados de muestras clínicas o conservados por subcultivo selectivo forman colonias pequeñas típicas que contienen bacterias con pili. En subcultivo no selectivo se forman también colonias de mayor tamaño que contienen gonococos sin pili.

Estructura antigénica

N. gonorrhoeae es heterogénea desde el punto de vista antigénico y capaz de cambiar sus estructuras de superficie in vitro y posiblemente in vivo para evitar las defensas del huésped. Las estructuras de superficie consisten en lo siguiente:

Pili: Estos son los apéndices en forma de vellos que se extienden hasta varias micras desde la superficie del gonococo. Fomentan la fijación a las células del huésped y la resistencia a la fagocitosis. Están constituidos por proteínas llamadas pilinas. Las pilinas de casi todas las cepas de *N. gonorrhoeae* son diferentes desde el punto de vista antigénico y una sola cepa puede elaborar muchas formas distintas de estructuras antigénicas de pilina.

Por (proteína I): Se extiende por toda la membrana del gonococo. Se encuentra en trímeros que forman poros en la superficie, por los cuales entran a las células algunos

nutrimentos. Cada cepa de gonococo expresa sólo un tipo de Por, pero cada una de las proteínas de las diferentes cepas es distinta desde el punto de vista antigénico. La tipificación serológica de la Por mediante reacciones de aglutinación con anticuerpos monoclonales, ha distinguido 18 serovares del tipo por A y 28 serovares del tipo Por B. (La serotipificación se efectúa sólo en los laboratorios de referencia).

Opa (proteína II): Esta proteína funciona en la adherencia de los gonococos dentro de las colonias y para la fijación de éstos a la célula del huésped. Una parte de la molécula de Opa se encuentra en la membrana gonocócica exterior, y el resto se encuentra sobre la superficie. Una cepa de gonococo puede expresar uno, dos, tres o ningún tipo de Opa, aunque cada cepa tiene 10 o más genes para Opas diferentes.

Rmp (proteína III): Esta proteína está conservada en la antigenicidad de todos los gonococos; es una proteína modificable por reducción (Rmp) y cambia su peso molecular aparente cuando se encuentra en estado reducido. Se une con Por en la formación de poros en la superficie celular.

Lipopolisacárido (LPS): En contraste con el de los bacilos Gramnegativos intestinales, el LPS gonocócico no tiene cadenas laterales O antigénicas largas y es llamado algunas veces lipooligosacárido. Los gonococos pueden manifestar más de una cadena de LPS antigénicamente diferente de manera simultánea. La toxicidad de las infecciones gonocócicas se debe en gran medida a los efectos endotóxicos del LPS.

Otras proteínas: Diversas proteínas constantes desde el punto de vista antigénico de los gonococos tienen funciones pobremente definidas en la patogenia. La Lip (**H8**) es una proteína de superficie expuesta que se puede modificar con calor, al igual que la **Opa**. La **Fbp** (proteína ligada al hierro), semejante en peso molecular a la **Por**, se expresa cuando es limitada la provisión de hierro, por ejemplo, en caso de infección humana. Los gonococos elaboran una proteasa de la **IgA1** que desdobra e inactiva a la IgA1, inmunoglobulina importante de la mucosa del ser humano. Los meningococos, *Haemophilus influenzae* y neumococos, también elaboran una proteasa IgA1 similar.

3.10. Heterogeneidad genética y antigénica

En los gonococos han evolucionado mecanismos para cambiar con frecuencia de una forma antigénica (pilina, Opa o LPS) a otra de la misma molécula. Este cambio tiene lugar en uno de cada 10³ gonococos, tasa extremadamente rápida de cambio para bacterias. Dado que pilina Opa y LPS son antígenos expuestos en la superficie de los gonococos, tienen importancia en la respuesta inmunitaria a la infección. El rápido cambio de la molécula de una forma antigénica a otra, ayuda a los gonococos a eludir el sistema inmunitario del huésped.

El mecanismo de cambio para la pilina, que se ha estudiado con cuidado, es diferente del mecanismo para la Opa.

Los gonococos tienen múltiples genes para codificar pilina, pero sólo un gen se inserta en el sitio de expresión, de donde los gonococos pueden remover todo o parte de este gen para pilina y reemplazarlo por todo o parte de otro gen para esta sustancia. Este mecanismo les permite a los gonococos, expresar muchas moléculas de pilina con estructuras antigénicas diferentes en el transcurso del tiempo. El mecanismo de cambio de Opa comprende al menos en parte, la adición o eliminación del DNA, de una o más de las repeticiones pentaméricas codificadoras que proceden a la secuencia que codifica al gen estructural de Opa. Se desconoce el mecanismo de cambio del LPS.

Los gonococos contienen varios plásmidos; 95 % de las cepas poseen un plásmido "criptico", pequeño de función desconocida. Otros dos plásmidos contienen genes que codifican la producción de β lactamasa, que le confiere resistencia a la penicilina. Estos plásmidos son transmisibles por conjugación entre gonococos; tienen semejanza con un plásmido encontrado en *H. influenzae* productor de penicilinas y es posible que los adquieran de *Haemophilus* u otros microorganismos Gramnegativos. Cinco o veinte por ciento de los gonococos contienen un plásmido con genes que codifican la conjugación; la frecuencia es más elevada en áreas geográficas donde son muy comunes los gonococos productores de penicilinas. En forma experimental en gonococos se ha desarrollado resistencia a la tetraciclina en altas concentraciones mediante la inserción de un gen estreptocócico que codifica para la resistencia a ese antibiótico, dentro del plásmido conjugativo.

Patogenia

- Producen enfermedad por su propiedad invasiva, pero al parecer sólo las bacterias con pili son virulentas.
- No se desarrolla inmunidad siendo común la reinfección.
- Se adquiere por contacto sexual.

Hombre: Produce uretritis que se puede extender a próstata y epidídimo, si persiste puede dejar una secuela como la estrechez uretral.

Mujer: Infección asintomática, a veces flujo mucopurulento y diseminación a trompas de Falopio (salpingitis) y torrente circulatorio (septicemia, artritis supurativa)

En recién nacidos de madres infectadas se produce conjuntivitis purulenta (oftalmía neonatorum) que progresa a la ceguera.

La bacteriemia gonocócica produce lesiones cutáneas (en especial pápulas y pústulas hemorrágicas) en manos, antebrazos, pies y piernas, tenosinovitis y artritis supurativa, por lo general de tobillos, rodillas y muñecas. La endocarditis gonocócica es una infección poco común pero grave. Los gonococos producen a veces meningitis e infecciones oculares en adultos, estas infecciones tienen manifestaciones semejantes a las producidas por los meningococos.

3.10.1 Diagnóstico de laboratorio

Muestras:

- Pus.
- Sangre para hemocultivo.
- Secreción uretral.
- Exudado Endocervical.
- Exudado conjuntival.
- Masaje prostático.
- Mucosa rectal.
- Líquido sinovial.

Frotis: Observación microscópica. (Diplococos arriñonados Gram. (-). (Dentro de los piocitos). Esto plantea un diagnóstico presuntivo.

Cultivo en agar chocolate y Thayer Martin: Se aprecian colonias típicas en 18- 24 horas de incubación.

Positividad a la prueba de la oxidasa.

Coagulación.

Inmunofluorescencia.

Fermentación de azúcares.

Serología: El suero y el líquido genital contienen anticuerpos IgG e IgA contra los pili, las proteínas de la membrana exterior y el LPS del gonococo. Algunas IgM de los sueros humanos son bactericidas para los gonococos in vitro. En personas infectadas se pueden identificar anticuerpos contra las vellosidades y las proteínas de la membrana exterior del gonococo mediante prueba de mancha inmunitaria, radioinmunoinvestigación y ELISA. Sin embargo, estas pruebas carecen de utilidad como auxiliares diagnósticos por diversos motivos: la heterogenicidad antigénica de los gonococos, el retraso en el desarrollo de los

anticuerpos en caso de infección aguda y un gran nivel de fondo de anticuerpos en la población sexualmente activa.

Neisseria meningitidis

3.10.2. Estructura antigénica

Se han identificado cuando menos 13 serogrupos de meningococos por medio de la especificidad inmunológica de sus polisacáridos capsulares. Los serogrupos más importantes que acompañan a la enfermedad en el hombre son:

- **A**
- **B**
- **C**
- **Y**
- **W-135**

Se encuentran antígenos meningocócicos en la sangre y el LCR de pacientes que sufren la enfermedad activa. Los brotes y los casos esporádicos ocurridos en el hemisferio occidental durante la última década, han sido causados principalmente por los grupos B, C, W-135 y Y; los brotes en el sur de Finlandia y Sao Paulo en Brasil, fueron causados por los grupos A y C; los de África se debieron principalmente al grupo A. Los microorganismos del grupo C y, en especial, los del grupo A, se relacionan con enfermedad epidémica.

Las proteínas de la membrana exterior de los meningococos se han dividido en 5 clases según su peso molecular. Todas las cepas tienen proteínas de la clase 1, 2 o 3; éstas son análogas a las proteínas **Por** de los gonococos, y son las causantes de la especificidad de serotipos de los meningococos. Ayudan a formar poros en la pared celular meningocócica. Se han definido hasta 20 serotipos; los serotipos 2 y 15 se han relacionado con la enfermedad epidémica. La proteína Opa (clase 5) es equivalente a la proteína **Opa** de los gonococos. Los meningococos tienen pili, pero, a diferencia de los gonococos, no forman tipos de colonias distintivas que indiquen bacterias con pili. El LPS meningocócico es el causante de muchos de los efectos tóxicos que ocurren en la enfermedad que produce.

Patogenia

El ser humano es el único huésped natural para el meningococo. Los niños y adultos jóvenes son muy susceptibles a las infecciones meningocócicas. Puede originar epidemias en áreas cerradas donde existe hacinamiento.

La vía de entrada es la nasofaringe. En ella los microorganismos se fijan a las células epiteliales con ayuda de las vellosidades; pueden formar parte de la flora transitoria sin producir síntomas. Desde la nasofaringe los microorganismos pueden llegar a la sangre y producir bacteriemia; quizá los síntomas produzcan la impresión de infección de las vías respiratoria superiores. La meningococemia fulminante es más grave, con fiebre elevada y erupción hemorrágica. Puede haber coagulación intravascular diseminada y colapso circulatorio (síndrome de Water-house-Friderichen).

La meningitis es la complicación más común de la meningococemia. Suele iniciarse de manera súbita con cefalalgia intensa, vómitos y cuello rígido, y progresa hasta el coma en plazo de unas cuantas horas.

Durante la meningococemia ocurre trombosis en muchos vasos sanguíneos pequeños y diversos órganos, con infiltración perivascular y hemorragias petequiales. Puede haber miocarditis intersticial, artritis y lesiones cutáneas. En caso de meningitis, se inflaman de manera aguda las meninges, con trombosis de los vasos sanguíneos y exudación de leucocitos polimorfonucleares, de modo que la superficie del cerebro queda cubierta por un exudado mucopurulento espeso.

No se sabe lo que transforma a la infección asintomática de la nasofaringe en meningococemia y meningitis, pero el fenómeno se puede prevenir mediante anticuerpos séricos bactericidas específicos contra el serotipo infeccioso. La bacteriemia por *Neisseria meningitidis* se ve favorecida por la ausencia de anticuerpos bactericidas (IgM e IgG), inhibición de la acción bactericida sérica por un anticuerpo IgA de bloqueo, o una deficiencia del complemento (C5, C6, C7 O C8). Los meningococos se someten fácilmente a fagocitosis en presencia de opsonina específica.

3.10.3. Diagnóstico de laboratorio

Muestras:

Sangre para Hemocultivo (meningococemias).

LCR. Para frotis y cultivo (meningoencefalitis).

Exudado nasofaríngeo (portadores).

Punción de petequias para frotis y cultivo.

Suero (pruebas serológicas).

Gota gruesa.

Frotis (Observación microscópica.)

LCR.

Punción de petequias.

Gota gruesa.

Cultivo

Agar chocolate.

Thayer Martin.

Prueba de la oxidasa.

Fermentación de azúcares.

Determinación de grupos serológicos.

Aglutinación de láminas con sueros específicos.

Pruebas serológicas. Determinar Acs a los polisacáridos meningocócicos del paciente mediante pruebas de aglutinación con látex o de hemaglutinación o por su actividad bactericida.

Inmunidad

La inmunidad a la infección meningocócica se relaciona con la presencia de anticuerpos bactericidas específicos dependientes de complemento en el suero. Estos anticuerpos se producen después de infecciones subclínicas por diferentes cepas, o de inyección de antígenos y son específicos de grupo, específicos de tipo o ambos. Los antígenos inmunizantes para los grupos A, C, Y y W-135, son los polisacáridos capsulares. El antígeno inmunizante para el grupo B está menos bien definido y puede incluir a proteínas de la membrana. Quizá los lactantes tengan inmunidad pasiva gracias a los anticuerpos IgG que les transfirieron sus madres. Los niños menores de 2 años de edad, no producen anticuerpos de una manera digna de confianza cuando se inmunizan con polisacáridos de meningococos o de otras bacterias.

CAPÍTULO IV: LOS BACILOS GRAM (+)

José Manuel Pigüave Reyes. MSc. Centro Especializado en Diagnósticos y Tratamiento "Muñóz"

María Felicidad Vélez Cuenca. MSc. Universidad Técnica de Manabí

Bolívar Augusto Cevallos Jácome. Md. Universidad Técnica de Manabí

Las bacterias anaerobias desempeñan sin duda un papel importante en muchas enfermedades infecciosas de riesgo mortal, aunque su significación queda aún por determinar en algunos cuadros clínicos. Las infecciones anaerobias pueden afectar cualquier región anatómica del cuerpo siempre que las condiciones de los tejidos sean apropiadas para ello. Los anaerobios participan comúnmente en abscesos de cualquier órgano (cerebro, pulmón, hígado trompas y ovarios) y la fuente de infección puede ser endógena o exógena.

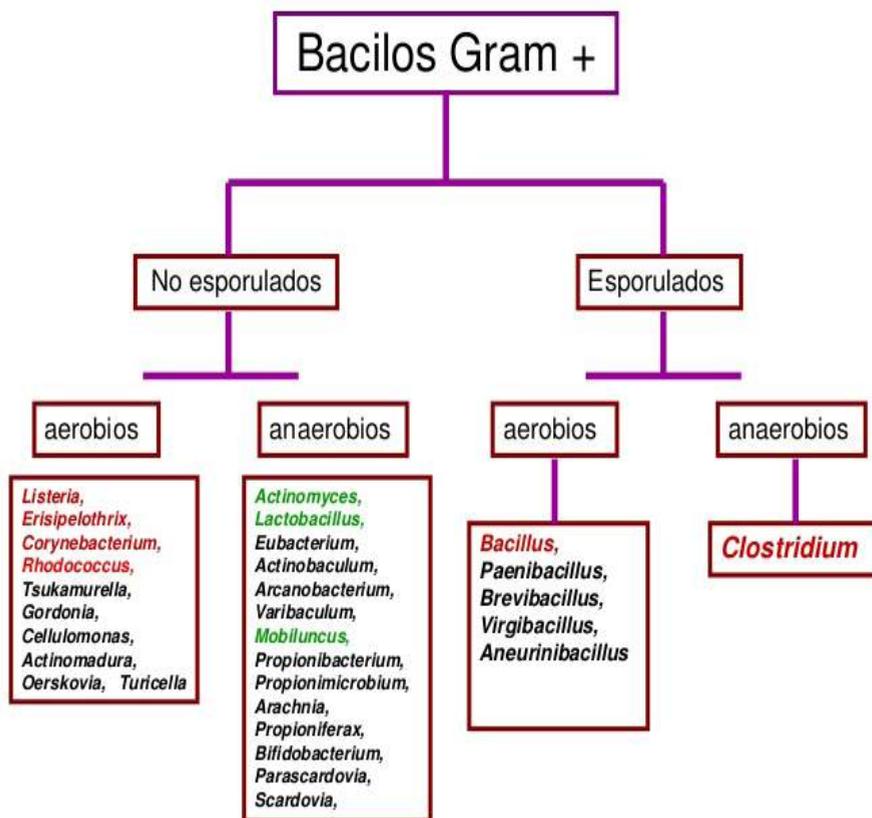
En tiempos pasados y antes del triunfo de la revolución morían muchas personas por enfermedades infecciosas, en muchos casos, las causas eran desconocidas, sin embargo, en otras, aunque estas causas se conocieran no se tenían los recursos monetarios para pagar la atención medica la cual era para los privilegiados o la clase pudiente.

Los gobiernos existentes, no se preocupaban por la salud del pueblo, sin embargo, al triunfar la revolución, ésta fue una de las primeras ramas que se empezó a desarrollar, la salud del pueblo y por el pueblo.

La medicina preventiva ha sido algo muy importante, porque lo esencial no es tener hospitales para ingresar enfermos, sino evitar precisamente que las personas enfermen y mueran inclusive por enfermedades muy peligrosas. Así es como fue desapareciendo en gran escala, el tétanos y la difteria entre otras enfermedades infecciosas, aunque todavía suelen verse casos esporádicamente y precisamente nuestra clase de hoy va a referirse entre otras a los agentes causales de estas enfermedades.

Bacilos Gram (+). Los clostridios. Características. Clasificación.

Características generales



Los bacilos Grampositivos formadores de esporas son las especies de los géneros Bacillus y Clostridium. Estos bacilos son cosmopolitas y debido a que forman esporas, pueden sobrevivir en el ambiente por muchos años. El género Bacillus es aerobio, mientras que los clostridios son anaerobios obligados.

De las numerosas especies de ambos géneros, Bacillus y Clostridium, la mayor parte no causan enfermedad y no se han estudiado en la microbiología médica. Sin embargo, varias especies, causan enfermedades importantes en el hombre. El ántrax, padecimiento prototipo en la historia de la microbiología, es causado por Bacillus anthracis. El ántrax sigue siendo una enfermedad importante de los animales y en ocasiones, del hombre y Bacillus anthracis podía ser también, un agente principal de guerra biológica.

4.1. Bacillus

Los microorganismos del género Bacillus son bacilos Gram (+), grandes, que se agrupan formando cadenas, forman esporas y son aerobios.

La mayoría de los miembros de este género son organismos saprofitos. (organismos que se forman en las sustancias putrefactas) como *Bacillus cereus* y *subtilis*, prevaleciendo en el suelo, el agua, el aire y sobre vegetales diversos. *B. cereus* puede desarrollarse en los alimentos, produciendo una enterotoxina que provoca envenenamiento alimentario. Tales microorganismos pueden en ocasiones producir enfermedades en personas con alteraciones inmunitarias, por ejemplo: meningitis, endocarditis, endoftalmítis, conjuntivitis o gastroenteritis aguda. *Bacillus anthracis* el cual causa el ántrax, es el principal patógeno del género.

4.1.1. Bacillus anthracis

Patogenia

El ántrax es primariamente una enfermedad del ganado **lanar, bovino y equino**, afectando al hombre solo ocasionalmente. La infección se adquiere generalmente por la entrada de esporas a través de la piel o mucosas lesionadas y raras veces por la inhalación de esporas a los pulmones. En el hombre las excoriaciones de la piel predisponen a la infección.

Las esporas germinan en los tejidos en el sitio de entrada y los bacilos se propagan por vía linfática a la sangre, multiplicándose libremente las bacterias.

En el hombre el ántrax da lugar a una infección de la piel que se conoce como Pústula maligna.

Se presenta primero una pápula después de penetrar el microorganismo o la espóra. Esta pápula rápidamente se transforma en vesícula, después en pústula y finalmente en una úlcera necrótica a partir de la cual, la infección puede propagarse dando lugar a una septicemia.

Otro tipo de ántrax (Neumonía primaria), resulta de la inhalación de esporas del polvo de lana, cuero y pelo (enfermedad de los cargadores de lana), que es a menudo mortal.

4.1.2. Bacilos anaerobios esporulados

Los Clostridios son bacilos grandes, móviles, Gram (+) anaerobios, que forman esporas, pueden descomponer las proteínas, formar toxinas o ambas cosas, **su hábitat natural es el suelo o el intestino de los animales y el hombre**, la mayoría de las especies son organismos saprofitos del suelo. Entre los patógenos se encuentran los causantes del Botulismo, del Tétanos y de la Gangrena gaseosa.

4.1.3. Morfología e identificación

Organismos típicos: Bacilos Gram (+) grandes esporulados, las esporas son generalmente mayores que el diámetro de los bacilos. En *Cl. tetani* la espora se localiza en un polo del bacilo, dándole la apariencia de palillo de tambor, en las diversas especies la espora se encuentra colocada ecuatorial, subterminal o terminal. La mayoría de los clostridios son móviles y poseen flagelos peritricos.

Cultivo: Crecen solamente en condiciones de anaerobiosis.

Forma de las colonias. Son variables para las diferentes especies y la mayoría producen hemólisis en gelosa sangre.

Características del crecimiento. La característica más importante de los bacilos anaerobios, es su incapacidad para utilizar el oxígeno como aceptor final de hidrógeno; carecen de citocromo y citocromooxidasa y son incapaces de destruir el peróxido de hidrógeno porque carecen de catalasa y peroxidasa. Por ello el H₂O₂ tiende a acumularse hasta alcanzar concentraciones tóxicas. Pueden fermentar diversos azúcares; muchos digieren a las proteínas. La leche es acidificada por algunos, digerida por otros, en tanto que un tercer grupo (por ejemplo *C. perfringens*) provoca en dicho medio la llamada “fermentación tormentosa”, es decir, con el coágulo disgregado por el gas. Diferentes especies producen una gran variedad de enzimas.

Características antigénicas:

Los Clostridios comparten antígenos, pero también parecen poseer antígenos específicos solubles que permiten agruparlos por medio de pruebas de precipitación.

Clostridium botulinum

Este microorganismo es de distribución mundial, se le encuentra en el suelo y ocasionalmente en heces de animales. Las esporas de *C. botulinum*, son particularmente resistentes al calor, soportando una temperatura de 100°C cuando menos durante tres a cinco horas; esta resistencia al calor disminuye en Ph ácido o en concentraciones elevadas de sal.

Producen enfermedad por elaboración de una potente toxina termolábil, la cual se destruye en 1 minuto por ebullición y en 10 minutos por calentamiento entre 75 a 85 °C.

Hay 8 tipos antigénicos de toxina botulínica (A-H). Los tipos A, B y E son los más frecuentemente asociados con la enfermedad en el humano.

Las esporas de *C. botulinum* germinan en alimentos envasados al vacío o ahumados, en los que existen condiciones de anaerobiosis. El Botulismo es una intoxicación resultante de la ingestión de alimentos en los cuales se ha desarrollado el *C. botulinum* y ha producido la toxina.

La toxina actúa bloqueando la producción o liberación de Acetilcolina en las sinapsis y uniones neuromusculares, produciendo una parálisis flácida.

La enfermedad se manifiesta por:

- Perturbaciones visuales.
- Ronquera o incapacidad para deglutir.
- Parálisis bulbar.
- Paro respiratorio o cardíaco.
- Muerte.

Los síntomas gastrointestinales, no son regularmente prominentes; no hay fiebre. El paciente permanece completamente consciente hasta poco antes de la muerte. La tasa de mortalidad es elevada. Los pacientes que se recuperan no forman antitoxina en sangre.

Ocasionalmente los lactantes durante los primeros meses de la vida, desarrollan debilidad, signos de parálisis y prueba electromiografía de botulismo. *C. botulinum* y la toxina botulínica se hallan en las heces, pero no en el suero, se cree que *C. botulinum* se desarrolla en el intestino y produce la toxina. La mayor parte de estos lactantes se recuperan con tratamiento de sostén solamente. Sin embargo, el botulismo en los lactantes, puede ser una de las causas del síndrome de muerte súbita neonatal. La alimentación con miel se ha considerado como una causa posible de botulismo infantil.

4.2. *Clostridium tetani*

Es de distribución mundial en el suelo y en las heces de caballos y de otros animales. Se han distinguido varios tipos de *C. tetani* por sus antígenos flagelares específicos; todos ellos comparten un antígeno O (somático) común, que puede estar enmascarado y todos producen el mismo tipo antigénico de neurotoxina, tetanospasmina. Las formas L. de *C. tetani* también producen tetanospasmina.

Patogenia

Produce enfermedad mediante la elaboración de una toxina que causa el **aumento de la excitabilidad refleja por acumulación de Acetilcolina en las terminaciones nerviosas.**

Cl. tetani penetra por lesiones de piel o mucosas contaminadas con polvo o heces de humanos y animales. En esta área de tejido muerto (heridas, cordón umbilical, suturas quirúrgicas), las esporas germinan, las formas vegetativas se reproducen y fabrican la toxina tetánica. Esta pasa a la circulación sanguínea y actúa sobre el tejido nervioso de la médula espinal y de los nervios periféricos dando por resultado los espasmos musculares. El tétanos se caracteriza por contracciones tónicas y convulsiones de los músculos voluntarios, llegando a afectar los músculos de la mandíbula (trismus) las cuales se contraen de tal forma que el paciente no puede abrir la boca.

Gangrena gaseosa-Patogenia

Diferentes especies de clostridios pueden causar la Gangrena gaseosa:

- Cl. perfringes (welchii).
- Cl. novyi.
- Cl. septicum.

Estos viven en el suelo y en el intestino de los animales. Su patogenicidad está dada por su propiedad invasiva y elaboración de toxinas y enzimas:

- a. Toxina alpha (lecitinasa)** de Cl. perfringes, descompone la lecitina, que es un constituyente de las membranas celulares.
- b. Toxina theta.** Tiene efectos hemolíticos y necrosantes.
- c. Colagenasa.** Digiere al colágeno.
- d. Hialuronidasa.** Desdobla al ácido hialurónico.
- e. Desoxirribonucleasa.** Despolimeriza al ADN.
- f. Enterotoxinas.** Elaboradas por algunas cepas de Cl perfringes, indica una hipersecreción marcada de líquidos en el intestino delgado, con la pérdida de líquidos y electrolitos por la diarrea. Aun no se ha establecido el mecanismo exacto, pero al parecer no implica la estimulación del adenilato ciclasa o el guanilato ciclasa.

Las esporas de Cl. de la Gangrena gaseosa penetran por heridas de piel o mucosas contaminadas con polvo o heces humanas. Germinan en presencia de tejido necrótico y se multiplican al mismo tiempo que fermentan los carbohidratos existentes en los tejidos y producen gas. En la gangrena gaseosa generalmente hay infección piógena asociada que contribuye a disminuir el potencial de óxido reducción tisular.

La distensión gaseosa de los tejidos y la falta de riego sanguíneo junto con la secreción de toxina necrotizante y la hialuronidasa, favorecen la diseminación de la infección.

La necrosis del tejido se extiende dando oportunidad a un mayor crecimiento bacteriano, anemia hemolítica, toxemia grave y muerte.

En la gangrena gaseosa la regla es la infección mixta. *C. perfringens* se presenta en el aparato genital en 5 % de las mujeres. Pueden presentarse infecciones uterinas por Clostridios consecutivamente al aborto provocado, la bacteriemia clostridial es frecuente en pacientes con neoplasias.

El *Cl. perfringens* puede desarrollarse en determinados alimentos donde produce enterotoxinas que al ser ingeridos producen envenenamiento alimentario.

Diagnóstico de laboratorio

Productos patológicos

- Exudado de la herida contaminada, pus, tejidos.
- Alimentos.

Examen microscópico:

En los frotis teñidos se pueden observar bacilos gram (+) grandes, en ocasiones, pero no siempre, esporulados. La situación de la espora (terminal, subterminal o central), facilita la identificación de la especie de Clostridium.

Cultivo: En condiciones anaerobias.

Demostración de la toxina: La identificación final se basa en la producción de toxinas y su neutralización por la antitoxina específica in vivo o in vitro.

4.3. Corynebacterias, Listeria y Actinomicas

Los bacilos Grampositivos que no forman esporas, son un grupo variado de bacterias. Muchos miembros del género *Corynebacterium* y sus equivalentes anaerobios, las especies del género *Propionobacterium*, forman parte de la flora normal de la piel y membranas mucosas del hombre. Otras corynebacterias se encuentran en animales y plantas. *C. diphtheriae*, es el miembro más importante del grupo, ya que produce una exotoxina potente que causa la difteria humana. *Listeria monocytogenes* y *Erysipelothrix*, se encuentran en su mayor parte en animales y en ocasiones, causan enfermedad grave en el hombre.

C. diphtheriae

Morfología

Son bacilos Gram (+) en forma de palillo de tambor, dispuestos en palizadas o en forma de letra china, no son esporulados.

Presentan distribuidos en su interior gránulos metacromáticos de volutina.

Cultivo y características del crecimiento

Se cultivan en agar sangre telurito, donde las colonias presentan coloraciones que van del gris al negro, debido a que el telurito es reducido intracelularmente. En el medio de suero coagulado de Löffler, las colonias son pequeñas, granulares y grisáceas, con bordes irregulares.

Son aerobios estrictos. Producen ácido de la glucosa, forman cistinasa y carecen de ureasa.

Para determinar la capacidad de producir toxina de un bacilo diftérico aislado se realiza una prueba de virulencia in vitro. Consiste en cultivar el bacilo sospechoso, cerca de una tira de papel de filtro saturado de antitoxina en un medio de cultivo especial de agar. Después de 48 horas de incubación, la toxina difunde en el medio y donde se encuentra a la antitoxina, se produce un precipitado que forma unas líneas radiales.

Patogenia

El *C. diphtheriae* tiene como huésped natural al hombre. Este agente se presenta de manera natural en vías respiratorias, heridas o en la piel de personas infectadas o de portadores normales. Se transmite por gotitas o contacto, en individuos susceptibles; luego, los bacilos virulentos proliferan en las membranas mucosas o en abrasiones cutáneas y comienzan a producir toxina. Su patogenia es el resultado de la acción de la toxina elaborada por los microorganismos. La adquisición de determinado fago, que se reduce a profago, conduce a la toxigenicidad (conversión lisogénica). La toxina cuando se absorbe causa:

- Destrucción del epitelio y formación de una seudomembrana.
- Lesiones tóxicas a distancia con degeneración parenquimatosa, infiltración grasa y necrosis en miocardio, tejido nervioso y otros órganos parenquimatosos (hígado, riñones, suprarrenales).

Las complicaciones más importantes de difteria se refieren al miocardio (miocarditis) y al sistema nervioso (parálisis del velo del paladar, de los músculos oculares o de las extremidades, así como a obstrucción respiratoria por extensión de la seudomembrana).

Para conocer si una persona tiene inmunidad (presencia de antitoxina en sangre y tejidos, se utiliza la reacción de Schick.

Esta es una reacción cutánea basada en el hecho de que la toxina diftérica es muy irritante cuando se inyecta intradérmicamente y a menos que sea neutralizada por la antitoxina circulante da lugar a una marcada reacción local.

4.3.1. *Listeria monocitogenes*

Bacilo Gram (+), corto, no esporulado que puede encontrarse formando parte de la flora normal de la vagina. Crece bien en medios enriquecidos con sangre donde produce zonas de hemólisis. En agar triptosa produce colonias verde azules, crece a temperatura de 37 °C, pero también puede crecer a 25 °C. Aerobio o microaerófilico, Se distribuye mundialmente en el hombre, animales, suelo y plantas. Al examen directo presenta una típica disposición difteroides en palizadas.

La relación causal de epidemias de listeriosis con alimento contaminado, sugiere que la forma natural de infección por este microorganismo es por vía gastrointestinal.

Puede producir:

- Septicemia con abscesos focales en el hígado.
- Meningoencefalitis con o sin bacteriemia.
- Puede estar asociado a un linfoma con o sin inmunodeficiencia.
- Septicemia intrauterina con fallecimiento.
- Abscesos o granulomas ampliamente diseminados en el tracto genital de mujeres grávidas y en el recién nacido de una a cuatro semanas.

Faringitis febril

- Enfermedad diseminada (neumonía, empiema y endocarditis).

Actinomyces israelii

Bacilo Gram (+), ramificado (se incluía antes entre los hongos filamentosos), anaerobio. Forma parte de la flora indígena de la cavidad bucal y del tracto gastrointestinal, no se ha aclarado lo que transforma el estado de portador de los microorganismos en bacterias invasivas.

La lesión típica consiste en un absceso con necrosis central, rodeado por tejido de granulación y por tejido fibroso, el pus a menudo contiene gránulos de azufre y puede drenar hacia el exterior a través de los fistulidos. La diseminación a sangre es rara.

La lesión inicial en la mitad de los enfermos es cervicofacial afectando:

- Cara.
- Cuello.
- Lengua.
- Mandíbula.

La quinta parte de los enfermos puede presentar Actinomicosis pulmonar (infección pulmonar granulomatosa que se caracteriza por lesiones piógenas con tractus sinuosos interconectados que contienen gránulos con microcolonias con elementos hísticos. La actinomicosis pélvica se ha presentado particularmente en mujeres que utilizan dispositivos intrauterinos.

4.4. Enterobacterias

Las Enfermedades Diarreicas Agudas (EDA), constituyen un serio problema cuando se presentan en niños. El control de las EDA, el conocimiento de sus agentes etiológicos, el rápido tratamiento y sobre todo las mejoras higiénico sanitarias y la educación popular posibilitan que cada año ocurran menos muertes por esta causa, sin embargo, en los países en desarrollo, las EDA como primera causa de muerte ocupan un lugar significativo, de ahí que el conocimiento de los agentes etiológicos sea de gran importancia en el diagnóstico de la enfermedad.

Las Enterobacterias constituyen una familia de bacilos Gram (-), no esporulados, anaerobias o aerobias facultativas, móviles merced a flagelos peritricos, que carecen de citocromooxidasa, poseen una gran actividad metabólica, fermentan una gran variedad de carbohidratos, poseen una estructura antigénica compleja, producen diversas toxinas y otros factores de virulencia. En la actualidad se han descrito por lo menos 27 géneros y 102 especies, así como 8 grupos entéricos.

Son organismos ubicuos que se encuentran en el suelo, el agua y la vegetación. Algunas forman parte de la flora normal del intestino del hombre y los animales, otras son generalmente patógenas para el hombre.

Sobre la base de su capacidad de utilizar la lactosa, podemos dividir a las enterobacterias en tres grupos:

- a. Fermentan rápidamente la lactosa: coliformes (*Echerichia coli*, *Enterobacteria*, *Klebsiella pneumoniae*).
- b. Fermentan lentamente la lactosa: *Arizona*, *Serratia*, *Providencia*, *Citrobacter*, *Hafnia*.

c. No fermentan la lactosa: Salmonella, Shigella, Proteus.

4.4.1. Estructura antigénica

Las enterobacteriaceas tienen una estructura antigénica compleja. Se clasifican por medio de más de 150 antígenos somáticos O termoestables (LPS), más de 100 antígenos K termolábiles (capsulares) y más de 50 antígenos H (flagelares). En Salmonella typhi los antígenos capsulares se llaman antígenos Vi.

Toxinas y enzimas

La mayor parte de las bacterias gramnegativas poseen LPS complejos en las paredes celulares. Estas sustancias, endotoxinas, tienen diversos efectos fisiopatológicos. Muchas bacterias intestinales Gramnegativas producen también exotoxinas de importancia clínica.

Salmonellas

Los organismos del género Salmonella son bacilos Gram (-) móviles, anaerobios facultativos, que no fermentan la lactosa, patógenos para el hombre y los animales por vía oral.

Morfología e identificación

Bacilos Gram (-).

Anaerobios facultativos.

No esporulados.

La mayoría son móviles merced a flagelos peritricos.

Crecen fácilmente en los medios de cultivo ordinarios.

No fermentan la lactosa, sacarosa ni salicilina.

Forman ácido y generalmente gas a partir de la glucosa, excepto Salmonella typhi.

Son resistentes a la congelación en agua y ciertos agentes químicos como el verde brillante, desoxicolato sódico, y tetratiónato sódico.

En los medios de cultivo (SS), forman colonias:

- Redondas.
- Convexas.
- Transparentes.
- Bordes regulares.

Las especies de Salmonellas pueden ser identificadas por reacciones bioquímicas y análisis antigénico.

4.4.2. Estructura antigénica

Antígeno "H" o flagelar (se inactiva por calentamiento a temperatura superior a 60 °C).

Antígeno "O" somático (forma parte de la pared de la célula bacteriana (LPS), y son resistentes al calentamiento prolongado a 100 °C).

Antígeno "Vi" o capsular (presentes en la extrema periferia de la bacteria, se destruye por calentamiento durante 1 hora a 60 °C).

Los cultivos que poseen antígeno "Vi" son más virulentos que los que no lo poseen.

Toxinas: Como en todas las bacterias Gram (-), la membrana de las Salmonellas contiene LPS. Se liberan por lisis de las células y actúan como endotoxinas. Ya ha sido demostrada una enterotoxina termolábil, prácticamente idéntica a la del cólera.

Patogenia

- Los organismos entran por vía oral y pueden producir 3 tipos de enfermedades:
 - Las fiebres intestinales o fiebre tifoidea (*S. typhi*) y paratifoidea (*S. paratyphi*). Penetran en los linfáticos intestinales → linfa → sangre → tejido linfóide donde se multiplican.
 - Septicemias.
 - Enterocolitis por irritación violenta de las mucosas.

Shigellas

Bacilo Gram (-).

Inmóvil.

Anaerobio facultativo.

Que con pocas excepciones no fermentan la lactosa.

El hábitat natural se limita al intestino del hombre donde produce disentería bacilar.

En los medios de cultivo (SS), forman colonias muy parecidas a las de Salmonella, o sea:

- Redondas.
- Convexas.
- Transparentes.
- Bordes regulares.

Forman ácidos a partir de carbohidratos, pero no gas (excepto newcastle y manchester).

Se conocen 4 grupos fundamentales y diversos tipos, entre ellas:

Grupo	Tipo
A	(1-10)
B	(1-6)
C	(1-15)
D	(1)

Estructura antigénica

Es completa, la mayoría comparten los antígenos “O” con otros bacilos entéricos.

Clasificación: Está basada en sus características bioquímicas y antigénicas.

Toxinas: Todas liberan mediante autólisis su antígeno somático. Shigella A produce la toxina Shiga (neurotóxica, enterotóxica y citotóxica).

Patogenia

Después de una incubación corta (1-4 días) se presenta:

- Dolor abdominal.
- Cólicos.
- Diarreas.
- Fiebre.

Ya que el género Shigella invade mucosa intestinal (íleon terminal y colon) produciendo infección local, necrosis, formación de úlceras que sufren infección sobreañadida por otros microorganismos entéricos.

Las heces son líquidas y contienen moco y sangre. Después de las primeras evacuaciones se acompañan de tenesmo.

Las enfermedades producidas por Shigella dysenteriae pueden ser graves e inclusive mortales.

Lo principal es la acidosis y deshidratación. *Shigella dysenteriae* y *flexneri*, elaboran enterotoxinas, neurotoxinas y citotoxinas.

Inmunidad

Se presenta respuesta serológica específica de tipo (IgA que limita la reinfección, pero puede producirse).

4.5. Echerichia coli

Es la especie de enterobacteria que más abunda en el intestino humano como miembro de la flora normal. Puede provocar EDA si en la infección intervienen cepas productoras de enterotoxinas (*E. coli* enteropatógena), afectando sobre todo a los lactantes y niños pequeños, también pueden afectar a los adultos (diarrea de los viajeros). La enterotoxina de *E. Coli* enteropatógena es una exotoxina que activa la adenilciclase aumentando la concentración de AMPc que da por resultado una hipersecreción intensa y prolongada del agua y cloruros e inhibe la resorción de sodio trayendo como resultado la diarrea explosiva. Esta enterotoxina es similar a la del Vibrión que produce el cólera.

En los últimos años cepas de *E. coli* no pertenecientes a los serotipos enteropatógenos reconocidos pero aislados en pacientes con diarrea, han producido probablemente una enterotoxina termolábil y/o termoestable. Además, se sabe que algunos serogrupos invaden las células epiteliales del intestino grueso y producen un síndrome clínico similar al causado por Shigellas. Aunque no es práctica para uso de rutina en el laboratorio la prueba estándar de invasividad determina la capacidad del microorganismo de producir queratoconjuntivitis en los ojos de los cobayos (Prueba de Séreny).

Ya se conocen otras dos cepas de *E. coli* que también pueden producir cuadros diarreicos, ECEH la cual puede producir verdaderos cuadros de diarrea con sangre e inclusive llegar a producir el síndrome hemolítico urémico y la ECEA.

ECEP

Guardan relación con diarrea estival de los lactantes, brotes de diarrea en salas de cuna y las epidemias de diarrea infantil en diversas comunidades.

- Bacilo Gram (-).
- Móvil.
- No encapsulado.
- Anaerobio facultativo.

- Fermenta glucosa y lactosa.
- Produce gas.
- No produce sulfídrico.
- Forma colonias planas y no viscosas en medios diferenciales.
- Produce hemólisis en gelosa sangre.
- Produce indol a partir del triptófano.
- Decarboxila la lisina.
- Fermenta el manitol.
- Puede cultivarse en células Hep2.

ECEI

Produce enfermedad inflamatoria de la mucosa y submucosa intestinal, similar a la producida por Shigella.

- Bacilo Gram (-).
- Inmóvil.
- Anaerobio facultativo.
- Fermenta glucosa y la lactosa tardíamente.
- No produce gas.
- No produce sulfídrico.
- Produce indol.
- Posee la capacidad de depender de plásmidos para invadir la mucosa (fimbrias).
- Los antígenos "O" de ECEI pueden mostrar reacciones cruzadas con los antígenos "O" de Shigella.

ECEH

Se identificó en 1982 cuando surgió un brote de colitis hemorrágica en los Estados Unidos y se demostró que había sido causado por un serotipo específico de E. Coli O 157: H 7. también causa el Síndrome hemolítico urémico y la Púrpura trombocitopénica trombótica.

- Bacilo Gram (-).

- Móvil.
- No encapsulado.
- Anaerobio facultativo.
- Fermenta glucosa y lactosa.
- Produce gas.
- No produce sulfídrico.
- Produce indol a partir del triptófano.
- Decarboxila la lisina.
- Fermenta el manitol.
- No fermenta el **SORBITOL**.
- Elabora citotoxinas potentes llamadas toxina I y II (similares a las de Shiga, por su semejanza a la toxina Shiga de *Shigella dysenteriae* tipo 1). Se conocen también como verotoxinas 1 y 2.
- La elaboración de la toxina depende de la presencia de algunos fagos que porta la bacteria.
- Tienen un plásmido que permite la expresión de un nuevo tipo de fimbrias que intervienen en la adherencia de la bacteria a la mucosa intestinal.

ECET

Constituye causa importante de diarrea de los viajeros y diarrea deshidratante en los lactantes y niños en países subdesarrollados.

- Bacilo Gram (-).
- Móvil.
- No encapsulado.
- Anaerobio facultativo.
- Fermenta glucosa y lactosa.
- Produce gas.
- No produce sulfídrico.
- Forma colonias planas y no viscosas en medios diferenciales.
- Produce hemólisis en gelosa sangre.

- Produce indol a partir del triptófano.
- Decarboxila la lisina.
- Fermenta el manitol.
- Producen enterotoxina similar a la del cólera (LT y ST) o ambas (LT/ST).

Se diagnostica por la producción de enterotoxinas.

ECEA

Causa importante de diarrea infantil en países subdesarrollados. Tiene un período de incubación de 20 a 48 horas.

Se diagnostica en células Hep2 (producen patrón agregativo característico, esta es una característica que depende de plásmidos).

El plásmido de virulencia de ECEA también codifica una nueva enterotoxina ST.

4.6. Vibrionaceas y Pseudomonas

Vibrium cholerae, Vibrium comma (agente causal del cólera).

El cólera constituye una enfermedad infecciosa que parece haber tenido su origen en los deltas de los ríos Ganges y Brahmaputra en Bangladesh.

Aunque en el sudeste de Asia se ha mantenido endemo epidémica, ha ocasionado distintas pandemias desde la primera mitad del siglo XIX, constituyendo la actual, la séptima, iniciada en 1961 en las islas Célebes, lo que ha tenido una amplia difusión al afectar alrededor de 98 países con un comportamiento un tanto impredecible.

Sus consecuencias en la salud se traducen por su contagiosidad, severidad y mortalidad si no se toman las medidas de control adecuadas. Por otra parte, sus repercusiones económicas, se expresan en los gastos de la atención médica de enfermos, afectación salarial y laboral, así como su influencia sobre el comercio, turismo y otros.

La experiencia acumulada hasta el presente ha demostrado que es imposible evitar la introducción del cólera en un país, sin embargo, sí es posible contener su propagación con un fuerte sistema de vigilancia epidemiológica, así como medidas de prevención adecuadas.

- Bacilo Gram (-) curvo, en forma de coma (2-4 mm de longitud).
- Móvil (presenta flagelo polar).
- Produce enterotoxina que causa el cólera.

- Anaerobio facultativo.
- No esporulado.
- Produce citocromooxidasa (oxidasa +).
- Produce la enzima catalasa.
- Prueba del hilo mucosoide (+).
- Habitantes normales del ambiente acuático.
- La mayor parte de las infecciones adquiridas se debe al contacto con el ambiente acuático o a la ingestión de alimentos del mar.
- En condiciones adecuadas proliferan rápidamente (en menos de 30 minutos).
- Son sensibles a Ph bajo y mueren rápidamente en soluciones por debajo de Ph 6.
- Son resistentes a las condiciones alcalinas (crecen bien a Ph entre 8,5 y 9,5).
- Crecen bien en 6 % de Cloruro de sodio.

V. cholerae y vibriones relacionados producen el cólera en el hombre. Otros vibriones pueden producir septicemias o enteritis.

Se pueden distinguir dos biotipos que producen la misma sintomatología (V. cólera clásico y V. cólera El Tor, este último se caracteriza por formar una hemolisina soluble y resistencia a diversos agentes físicos y químicos).

4.6.1. *Vibrio cólera O 139*

En octubre de 1992, se desató en Madrás, India una epidemia de una enfermedad similar al cólera, las cepas elaboraban la toxina, pero no aglutinaban con el antisuero O1. Este cambio fue inesperado pues hasta la fecha se creía que sólo V. cólera toxigénico del serogrupo O1 era capaz de causar el cólera epidémico.

- Bacilo Gram (-).
- Similar al serogrupo O1 en sus características bioquímicas, toxigénicas y morfológicas, excepto en su aglutinación al antisuero O1.
- Aglutina bien con antisuero específico O 139.
- Produce citocromooxidasa (oxidasa +).
- Produce la enzima catalasa.

- Prueba del hilo mucoide (+).
- Produce enterotoxina que causa enfermedad similar al cólera.
- La inmunidad adquirida contra el serogrupo O1 no protege contra infecciones por el O 139, (tampoco las vacunas).

Patogenia

El V. cólera vive exclusivamente en el hombre. Su patogenicidad depende de su toxigenicidad, por elaboración de una potente enterotoxina. La susceptibilidad es universal.

Penetra por vía oral con el agua y alimentos contaminados con heces de personas enfermas.

Produce la enfermedad llamada cólera. En ella hay multiplicación de vibriones en el intestino delgado y liberación de enterotoxinas. Dicha toxina provoca un aumento de la actividad de la adenilciclasa y de la concentración de AMPc con hipersecreción de agua y cloruros en la mucosa del intestino delgado.

Inmunidad

Un ataque de cólera es seguido de inmunidad a la reinfección, pero la duración y el grado real de dicha inmunidad se desconocen. Después de la infección aparecen en el hombre, anticuerpos específicos en la luz intestinal (IgA secretoria). La vacunación por inyección de suspensiones densas de V. cólera muertos puede conferir protección limitada.

Diagnóstico de laboratorio

• Productos patológicos

- Heces fecales.
- Vómitos.

• Examen microscópico

La observación en campo oscuro permite distinguir los bacilos en forma de comas móviles, aunque no es un método muy recomendado.

• Cultivo

- Agua de Peptona Alcalina (enriquecimiento).
- Medio selectivo especial.

- **Pruebas bioquímicas**

- Oxidasa.
- Catalasa.
- Cuerda.
- Fermentación de azúcares.
- Formación de Indol.
- Capacidad de reducir nitratos a nitritos.

- **Serología**

Por reacciones de aglutinación en láminas mediante antisueros específicos.

- **Determinación del biotipo**

- Por su capacidad de producir hemólisis.
- Resistencia a determinados agentes.

Aeromonas

- Bacilo Gram (-) de vida libre.
- Móvil (presenta flagelo polar).
- Produce citocromooxidasa (oxidasa +).
- Produce enterotoxina que causa enfermedad similar al cólera.
- Anaerobio facultativo.
- No esporulado.
- Produce la enzima catalasa.
- *Aeromonas hydrophila* es la especie más importante que causa enfermedad en el hombre.
- Produce hemólisis en agar sangre.
- Predomina en agua dulce y en ocasiones en animales de sangre fría (reptiles, anfibios, peces).
- Produce diarreas e infecciones extraintestinales.
- No crecen en 6% de Cloruro de sodio (lo que lo diferencia del *V. cólera*).

Plesiomonas

- Bacilo Gram (-).
- Móvil (presenta flagelo polar).
- Produce citocromooxidasa (oxidasa +).
- Común en áreas tropicales y subtropicales.
- Produce diarrea.
- Algunas cepas comparten antígenos con *Shigella sonnei* (D).
- Existe en animales de sangre fría y caliente.

4.7. *Pseudomona aeruginosa*

El género *Pseudomona* está compuesto por bacilos Gram (-), móviles que difunden a través del medio. Se encuentran ampliamente distribuidos en el suelo, el agua, las aguas negras y el aire y es frecuente descubrirla en los ambientes húmedos hospitalarios. Puede colonizar al ser humano normal, en el cual es un microorganismo saprófito.

Se presenta frecuentemente en pequeña proporción en la flora intestinal normal. Otras especies de *Pseudomonas* ocurren en el medio, pero rara vez producen enfermedades.

Crece con facilidad en los medios de cultivo, no fermenta la lactosa y forma colonias lisas de color verdoso fluorescente y de olor aromático “dulzón”. De las colonias difunde un pigmento verde azul hacia el medio. Algunas cepas tienen actividad hemolítica.

Es patógena sólo cuando es introducida en zonas que carecen de las defensas normales y produce enfermedad. Es muy resistente a los antibióticos. Presentan una gran susceptibilidad a las infecciones por este microorganismo, los lactantes y prematuros, pacientes quemados y los que han sufrido intervenciones quirúrgicas o diagnósticas.

Causa infecciones de heridas donde originan un pus verde azulado, de ahí su nombre común (bacilo piocianico), causa también meningitis, septicemias infecciones urinarias neumonías, otitis y conjuntivitis.

RESUMIENDO:

- Bacilo Gram (-).
- Móvil (presenta flagelo polar).

- Se encuentra de manera aislada en parejas y ocasionalmente, en cadenas cortas.
- AEROBIO obligado.
- Crece con facilidad en diversos medios de cultivos.
- Produce en ocasiones un olor dulzón o de uvas.
- Algunas cepas producen hemólisis en gelosa sangre.
- Crece bien a una temperatura que oscila entre 37 a 42 °C (su crecimiento a 42°C ayuda a distinguirla de otras especies de Pseudomona).
- Produce citocromooxidasa (oxidasa +).
- Produce los siguientes pigmentos.
 - Píocianina (pigmento azuloso no fluorescente, que se difunde en el agar).
 - Píoverdina (pigmento fluorescente, que imparte un color verdoso al agar).
 - Píorrubina (pigmento que imparte un color rojo al agar).
 - Píomelanina (pigmento que imparte un color negro al agar).

Diagnóstico de laboratorio

Productos patológicos

- Pus.
- LCR.
- Sangre.
- Orina.
- Esputo.
- Secreciones conjuntivales.

Examen microscópico

- Bacilos Gram (-)

Cultivo

En agar sangre forma colonias irregulares pigmentadas a menudo hemolíticas.

- Pruebas bioquímicas.

- Producción de pigmentos.
- Prueba de oxidasa.
- Crecimiento a 42 °C.
- Motilidad.
- Reducción de nitratos a nitritos.
- Determinación de Píocianotipos.

4.8. Proteus, Yersinia y otras enterobacterias

Proteus.

Morfología: Bacilos Gram (-)

Cultivo y características del crecimiento

Los organismos del grupo Proteus crecen en medios de cultivo simples, donde sus colonias tienden a extenderse o diseminarse por la superficie (spread). Hidrolizan rápidamente la urea.

Especies:

- P. mirabilis.
- P. vulgaris.
- M. morganii.
- P. rettgeri.

Patogenia

Se encuentran en la flora indígena intestinal. Son resistentes a los antibióticos (excepto P. mirabilis que es sensible a la penicilina). Causan infecciones urinarias, septicemias y lesiones purulentas en diferentes órganos.

Diagnóstico de laboratorio

Productos patológicos

- Orina.
- Sangre.
- Pus.
- etc.

Examen microscópico

Bacilos Gram (-)

Cultivo. Las muestras pueden sembrarse en agar nutriente o en agar sangre donde sus colonias forman spread. En el medio diferencial de Mc Conkey produce colonias blancas o incoloras, ya que no ataca la lactosa. Son móviles.

Pruebas bioquímicas. Se determina:

- Fermentación de azúcares.
- Hidrólisis de la urea.
- Producción de indol.
- Producción de sulfhídrico.
- Crecimiento en citrato.

Yersinia

El género *Yersinia* fue incorporado recientemente a las enterobacterias. La especie más conocida (*Y. pestis*) es el agente etiológico de la Peste o Plaga, grave enfermedad transmitida al hombre por una pulga, aunque también puede transmitirse al hombre por microgotas en su forma neumónica.

Las otras especies patógenas (*Y. pseudotuberculosis* y *enterocolítica*) provocan afecciones menos graves que la Peste, afectando al tubo digestivo, con compromisos de los ganglios linfáticos mesentéricos.

Yersinia enterocolítica es un miembro ocasional de la flora intestinal humana. Se desarrolla mejor a 25 °C. Puede producir diarrea febril en el perro y el humano con diseminación de persona a persona por contacto íntimo. El dolor abdominal intenso puede sugerir apendicitis y conducir a intervención quirúrgica. Puede haber ileítis, adenitis mesentérica, abscesos hepáticos o esplénicos y raramente bacteriemia o endocarditis.

Los cerdos y los perros pueden constituir fuentes de infección. La diseminación epidémica puede ocurrir a través del agua o alimentos contaminados.

Campylobacter jejuni. (antes Vibrio) fetus

Hasta hace poco ha surgido como una causa común de enteritis aguda. Puede aislarse de heces en cultivos microaerófilos incubados a 42 °C en un medio que contenga Vancomicina, Polimixina B y Trimetropin.

El período de incubación es de 2-10 días. No produce vómitos, pero sí diarreas y fiebre.

El microorganismo crece en yeyuno e íleon.

- Bacilo Gram (-) en forma de coma o alas de gaviota.
- Móvil (presenta flagelo polar).
- No forman esporas.
- Microaerófilos.
- Termofílico.
- Produce citocromooxidasa (oxidasa +).
- Produce la enzima catalasa.
- Habitan en numerosas especies animales, incluyendo fundamentalmente animales domésticos.
- Causa común de enteritis en el hombre.

CAPÍTULO V: LOS BACIOS GRAM (-) PEQUEÑOS

Sonia Patricia Ubillús Saltos. Ph.D. Instituto Tecnológico Superior "Portoviejo"
Ministerio de Educación

Juan Pablo Ipiales Vásconez. Md. MSc. Hospital Juan Montalván. Los Ríos

Shirley Ximena Arteaga Espinoza. Dra. Universidad Laica "Eloy Alfaro" de Manabí

Cindy Lisette Vivas Arteaga. MSc. Hospital IESS Portoviejo

Las brucellas

Las enfermedades infecciosas de los animales tienen importancia para el hombre principalmente, por las pérdidas económicas que ocasionan y por la posibilidad de que los agentes etiológicos se transmitan a las personas.

Las zoonosis son las enfermedades infecciosas de los animales que pueden transmitirse al hombre. A medida que hemos ido estudiando las enfermedades infecciosas hemos visto como algunas como el ántrax pueden ser transmitidas por animales, independientemente del huésped natural o del tipo de organismo que causa la infección. todas las zoonosis tienen algunos caracteres comunes que son los siguientes:

- Son riesgos inherentes a la profesión o actividad de las personas que están en estrecho contacto con animales o con sus productos, por ejemplo: veterinarios, ganaderos y carniceros.
- Rara vez se transmiten de persona a persona.
- Las manifestaciones clínicas son análogas.

Las brucellas son pequeños cocobacilos Gram (-), aerobios, inmóviles, no esporulados y con relativa inactividad metabólica. Son parásitos obligados de los animales y del hombre, siendo característica su localización intracelular. Presentan, además, cápsula.

Se conocen diferentes especies de Brucellas entre ellas tenemos:

- Br. melitensis → infecta a las cabras.
- Br. suis → infecta a los cerdos.
- Br. canis → infecta a los perros.
- Br. abortus → infecta al ganado vacuno.

La enfermedad en el hombre llamada Brucellosis (fiebre de Malta, fiebre ondulante), está caracterizada por una fase septicémica aguda seguida por un estadio crónico que puede prolongarse muchos años y llegar a afectar diferentes órganos y tejidos.

5.1. Forma e identificación

Organismos típicos: El aspecto en cultivos jóvenes varía desde cocos a bacilos de 1,2 μm . de largo, predominando las formas cocobacilares cortas. Los organismos son Gram (-) pero a menudo se tiñen irregularmente. Puede demostrarse la presencia de cápsula en las variantes lisas y mucoides. Estos organismos son inmóviles y no esporulados.

Cultivo: En medios enriquecidos, aparecen colonias pequeñas, convexas y lisas a los 2 a 5 días.

Características del crecimiento: Las brucellas están adaptadas a un hábitat intracelular y sus requerimientos nutritivos son complejos. Algunas cepas han sido cultivadas en medios sintéticos compuestos por **18 aminoácidos, vitaminas, sales y glucosa**. Los productos patológicos recientemente obtenidos de fuentes animales o humanas se inoculan generalmente en agar soya tripticasa. Br. abortus requiere 5- 10 % de CO₂ para su crecimiento. Las demás especies crecen bien sin CO₂. Las brucellas utilizan diversos carbohidratos, pero no producen ácido ni gas en cantidades suficientes como para aprovechar estas pruebas en su clasificación. Algunas cepas producen catalasa y oxidasa. Muchas cepas producen ácido sulfídrico, los nitratos son reducidos a nitritos. **Son moderadamente sensibles al calor y a los ácidos.** Mueren en la leche durante la pasteurización.

Patogenia

Las brucellas viven en animales. Producen enfermedades por su capacidad invasiva, intervienen en la aparición de las lesiones, la liberación de endotoxinas por autólisis de los microorganismos.

Las brucellas son poco activas metabólicamente y se adaptan con facilidad a vivir intracelularmente.

Penetran por piel y mucosas (ingestión de leche contaminada) a partir de tejidos, secreciones y excreciones de animales infectados.

Los adultos que manipulan animales son los más expuestos a la infección brucelósica.

Las brucellas producen la brucellosis (fiebre ondulante, fiebre de Malta), enfermedad febril caracterizada por una fase septicémica aguda con formación de nódulos granulomatosos en órganos parenquimatosos (ganglios, hígado, bazo, médula ósea,

etc.), seguida por un estadio crónico que puede prolongarse muchos años y llegar a afectar diversos tejidos con formación de abscesos (osteomielitis, meningitis, colecistitis, etc.).

Diagnóstico de laboratorio

Muestras:

- Sangre para cultivo.
- Material de biopsia para cultivo.
- Suero para reacciones serológicas.

Cultivo:

En medios enriquecidos:

- Caldo Soya Trypticasa.
- Agar Soya Trypticasa.
- Medio difásico de Castañeda.
- (Se incuba en 10 % de CO₂.)

Serología: Para demostrar los Acs aglutinantes.

5.2. Los haemophilus

Es un grupo de bacilos gram (-) pequeños, que necesitan medios de cultivo enriquecidos generalmente con sangre para su aislamiento.

Algunos forman parte de la flora microbiana normal del hombre, otros *Haemophilus influenzae* son causantes de enfermedades humanas.

5.2.1. *Haemophilus influenzae*

Se encuentra en las mucosas de las vías respiratorias del hombre. Es una causa importante de meningitis en niños y en ocasiones produce infecciones de las vías respiratorias en niños y adultos.

Morfología: Bacilos Gram (-) pequeños.

Cultivo y características del crecimiento

Se desarrollan en medios de cultivo enriquecidos con sangre calentada (agar chocolate) y una atmósfera rica en CO₂. El *Haemophilus influenzae* requiere para su crecimiento los factores nutricionales X (hemina) y V (nucleósido de nicotinamida).

5.3. Estructura antigénica

Poseen polisacáridos capsulares que permiten determinar 6 tipos (A- F) por prueba de hinchazón de la cápsula (prueba de Neufeld) frente al antisuero específico.

Patogenia

Existen diversas especies de Haemophilus, algunos forman parte de la FN del hombre y otros son importantes microorganismos patógenos. El H. influenzae puede encontrarse normalmente en la nasofaringe, su patogenicidad depende de su capacidad invasiva, ya que no produce exotoxina.

La presencia de la cápsula está relacionada con la virulencia, al proteger al organismo de la fagocitosis

La mayoría de las enfermedades causadas por H. influenzae ocurren en niños menores de tres años y son debidas al serotipo b. El microorganismo penetra por la mucosa del aparato respiratorio superior a partir de personas infectadas. El H. influenzae es uno de los principales agentes causales de meningitis en los niños, así como de laringotraqueítis, otitis, sinusitis, bronquitis y neumonías (primaria o secundaria a un proceso viral).

Diagnóstico de laboratorio

Productos patológicos:

- LCR. Esputo.
- Pus. Sangre, etc.

Examen microscópico:

- Bacilos Gram (-) pequeños.

Prueba de Neufeld:

- Hinchazón de la cápsula (A- F).

Cultivo:

- Agar chocolate, se incuba a 37 °C en una atmósfera rica en 10 % de CO₂, durante 24 a 48 horas.

5.4. Requerimientos nutricionales

Determinan la necesidad de los factores V y X. Para ello se siembra el microorganismo en un medio sin sangre y si crece no requiere factor X.

La necesidad del factor V se establece mediante el fenómeno de satelitismo, consiste en inocular estafilococos sobre una siembra del microorganismo. Después de la incubación a 37 °C durante 4 horas, si las colonias del microorganismo son mayores mientras más cerca se encuentran de la colonia de estafilococo, indica que requieren factor V, ya que los estafilococos liberan abundantemente dicho factor en el medio.

5.5. *Bordetella pertussis*

Morfología: Bacilos Gram (-) pequeños.

Cultivo y características del crecimiento:

Se cultiva en el medio especial de Bordet Gengou (agar- papa- sangre- glicerol), donde forman colonias pequeñas, lisas, convexas, con un lustre perlado en 36 a 72 horas. Dichas colonias pueden estar rodeadas por un estrecho halo de hemólisis.

La *B. pertussis* vive en el hombre. Los microorganismos encapsulados son violentos y por desintegración liberan una endotoxina que interviene en la producción de lesiones. Penetra por la vía respiratoria a partir de pacientes. Causa la tosferina. La mayoría de los casos de enfermedad ocurren en niños pequeños. Los microorganismos se adhieren y multiplican en el epitelio superficial de la tráquea y los bronquios, donde interfiere en el movimiento ciliar. No invade la sangre. La endotoxina irrita las células superficiales y crea síntomas catarrales (tos paroxística y linfocitosis).

5.5.1. *Legionella Pneumophila*

Es la bacteria causal del brote epidémico (que ha recibido tanta publicidad) de una enfermedad respiratoria que atacó a las personas que asistieron a una convención de legionarios estadounidenses en Filadelfia en 1976, se han diagnosticado retrospectivamente otros brotes que ocurrieron en 1965 o antes y en todo el mundo. Desde 1947 han aparecido infecciones esporádicas con síntomas o sin ellos.

Las legionellas se tiñen mal, aparentemente es Gram (-) y se aíslan con frecuencia de biopsia de pulmón, pero rara vez de líquido pleural, sangre o esputo.

La infección **NO** se contrae por el contacto con los pacientes enfermos, sino que se requiere del ambiente por aspiración de aerosoles o polvo asociados o con excavaciones del suelo.

Hay cuando menos 4 tipos antigénicos

La infección asintomática puede ser común y se descubre sólo por la elevación de los Acs específicos. La enfermedad clínica puede manifestarse por la aparición brusca de fiebre alta, escalofríos, malestar, tos seca, hipoxia, diarrea y postración o delirio. El Rx de tórax revela consolidación a menudo multilobar irregular. Puede

haber leucocitosis, hiponatremia, hematuria y pruebas de funcionamiento hepático anormales. Durante las epidemias, las tasas de mortalidad han sido entre el 10 y el 20 %.

El diagnóstico puede basarse en un notable incremento en el título de Acs séricos a los Ags de la legionella lo cual se descubre por IF o por tinción inmunofluorescente del microorganismo en el tipo pulmonar obtenido por biopsia o en la necropsia. El diagnóstico rara vez se hace por el crecimiento del microorganismo a partir de especímenes obtenidos en vida.

La legionella es susceptible in vitro a diferentes medicamentos antimicrobianos. La eritromicina (500 mg) por vía EV cada 6 horas ha sido eficaz en el tratamiento de la infección humana, así como de la enfermedad experimental en los cobayos.

5.5.2. Bacteroides

Es un gran grupo de anaerobios estrictos, no esporulados, formado por bacterias Gram (-) que son muy pleomórficas. Crecen en forma rápida en medios de cultivo complejos.

Los polisacáridos capsulares, parecen ser factores de virulencia importantes.

Son habitantes normales de la parte alta del sistema respiratorio, sistema genital y sistema digestivo. Constituyen más del 95 % de la flora fecal normal. Las especies más frecuentemente encontradas son:

- Bacteroides fragilis (intestino grueso).
- Bacteroides melaninogénicus (orofaringe).
- Bacteroides oralis.

Puede causar infecciones en:

- Pulmón.
- Encéfalo.
- Peritoneo.
- Pelvis.
- Lesiones ulcerativas de piel y mucosas.

5.6. Las bacterias espirilares. Chlamydias

Las espiroquetas constituyen un grupo grande y heterogéneo de organismos espirilares móviles. Son bacilos de pared delgada, flexible y forma helicoidal. Se

desplazan mediante ondulación de un filamento axial que está enrollado a lo largo del cuerpo celular. Tres géneros contienen patógenos importantes para la especie humana: *Treponema*, *Borrelia* y *Leptospira*.

Treponema pallidum:

La Sífilis es una enfermedad infectocontagiosa, de evolución esencialmente crónica (de varios años).

Aun cuando antes de 1905, algunos investigadores habían observado el *Treponema*, fueron en el año señalado Schaudinn y Hoffman, quienes comunicaron con toda certeza su hallazgo.

Si bien existen evidencias de haberse padecido la enfermedad desde tiempos inmemoriales, adquiere carácter epidémico y pandémico desde el descubrimiento de América. La contrajo la tripulación de Colón desde el primer viaje, difundándose rápidamente por toda Europa.

La palabra Sífilis proviene del nombre de un pastor llamado Sífilo, quien contrajo la enfermedad como castigo de los dioses.

Morfología e identificación:

Microorganismos típicos: Es una bacteria espirilar, flexible, activamente móvil, que miden alrededor de 0,2 μm de ancho y 5 a 15 μm de largo. Sus vueltas de espira están a 1 μm una de otra. Las espirales son tan delgadas que no se ven con facilidad a menos que se use la Inmunofluorescencia o la iluminación de campo oscuro. No se tiñen bien con los colorantes de anilina, aunque reducen el nitrato de plata a plata metálica, la cual se deposita sobre su superficie en tal forma que las treponemas pueden ser observados en los tejidos. (Impregnación argéntica de Levaditi). Las treponemas generalmente se reproducen por fisión transversal y los microorganismos resultantes pueden quedar adheridos uno al otro durante cierto tiempo.

Cultivo: *Treponema Pallidum* es patógeno para el hombre, pero no ha podido ser cultivada en medios artificiales, pero sí en cultivo de células de conejo cola de algodón. Las treponemas no patógenas por ejemplo la cepa de Reiter pueden cultivarse in vitro en condiciones de anaerobiosis.

Características del crecimiento: Debido a que no ha podido lograrse el cultivo de *T. pallidum*, no se han podido efectuar estudios sobre su fisiología. La cepa de Reiter crece en un medio definido de 11 aminoácidos, vitaminas, sales minerales y seroalbúmina. En líquidos apropiados de suspensión y en presencia de sustancias reductoras, *T. pallidum* puede permanecer móvil por tres a seis días a 25 °C; en sangre

total o en plasma almacenados a 4 °C, los microorganismos permanecen viables por cuando menos 24 horas, lo cual es de posible importancia en las transfusiones de sangre.

Reacciones a los agentes físicos y químicos: La desecación mata a las espiroquetas rápidamente, así como lo hace la elevación de la temperatura a 42 °C. Las treponemas pierden su movilidad y mueren rápidamente por efecto de los arsenicales trivalentes, el mercurio o el bismuto; esta acción mortal es acelerada por las temperaturas altas y es parcialmente reversible y los microorganismos pueden ser reactivados por compuestos que contengan grupos –SH (por ejemplo, la cisteína o el BAL [dimercaprol]). La penicilina es treponemicida en pequeñas concentraciones, pero la velocidad de muerte es lenta, quizá debido a la inactividad metabólica y la lenta velocidad de crecimiento del microorganismo (se ha estimado el tiempo de generación en 30 horas). En la sífilis no se ha demostrado resistencia a la penicilina.

Variación: Se ha postulado para *T. pallidum* un ciclo vital que incluye etapas granulares y cuerpos esféricos cistoideos, además de la forma espiroquetal. La capacidad que en ocasiones muestra *T. pallidum* para atravesar los filtros bacteriológicos ha sido atribuida a la filtrabilidad de la etapa granular.

Patogenia

El *T. Pallidum* vive exclusivamente en el hombre y su patogenicidad depende de sus características invasivas. Esta enfermedad puede ser congénita o adquirida por contacto sexual. También se puede adquirir por vía transplacentaria y por medio de transfusiones.

- A. Sífilis adquirida:** Se adquiere por contacto sexual y la lesión infecciosa se localiza en la piel y mucosas de los órganos genitales. Sin embargo, en 10 a 20 % de los pacientes, la lesión primaria es intrarrectal, perianal o bucal. Puede presentarse en cualquier parte del cuerpo. Es probable que *T. Pallidum* penetre a través de las mucosas intactas o de una excoriación de la epidermis. Las espiroquetas se multiplican localmente en el sitio de entrada, algunas se diseminan a los ganglios linfáticos locales y alcanzan la corriente sanguínea. De 2 a 10 semanas después de la infección aparece en el sitio de entrada una pápula que se desintegra para formar una úlcera de base limpia y dura (chancro duro). Esta lesión primaria cura espontáneamente, varias semanas más tarde se desarrollan las lesiones secundarias, éstas consisten en un exantema máculo papuloso rojo en todas partes del cuerpo (que incluye palmas de las manos y plantas de los pies, pápulas húmedas y pálidas (condilomas) en la región ano genital,

axilas y boca. Pude haber también meningitis sífilítica, coriorretinitis, hepatitis, nefritis (del tipo de complejo inmunitario) o periostitis. Las lesiones secundarias también sanan espontáneamente. Tanto las lesiones primarias como secundarias son ricas en espiroquetas y muy infecciosas; las lesiones contagiosas pueden ocurrir dentro de los primeros tres a cinco años después de la infección, pero a partir de entonces el individuo ya no es infeccioso. La infección puede permanecer subclínica, pasando el paciente por el estadio primario, por el secundario, o por ambos, sin síntomas ni signos: sin embargo, tales individuos pueden desarrollar las lesiones terciarias tardías.

B. Sífilis terciaria: Aproximadamente 30 % de los individuos con infecciones sífilíticas evolucionan espontáneamente hacia la recuperación total sin tratamiento. En otro 30 % la infección no tratada permanece latente (lo cual puede ponerse de manifiesto principalmente por las reacciones serológicas positivas). El resto de los enfermos evoluciona hacia el período terciario, caracterizado por el desarrollo de lesiones granulomatosas, (llamados gomas) en la piel, huesos e hígado, cambios degenerativos del SNC, o lesiones cardiovasculares. **En todas las lesiones terciarias las treponemas son muy raros y por lo tanto NO son contagiosas.** La exagerada respuesta del tejido debe atribuirse a alguna forma de hipersensibilidad hacia los organismos infectantes. Sin embargo, ocasionalmente se encuentran treponemas en los ojos o el sistema nervioso central en la sífilis tardía.

C. Sífilis congénita: Una mujer sífilítica embarazada puede transmitir el microorganismo al feto a través de la placenta a partir de la 10ª a la 15ª semanas de gestación. Algunos de los fetos infectados mueren dando lugar al:

- Aborto.
- Otros nacen muertos.

Unos cuantos nacen vivos, pero desarrollan los signos de Sífilis congénita durante la infancia como:

- Queratitis intersticial.
- Dientes de Hutchinson.
- Nariz en silla de montar.
- Tibia en sable. (periostitis).

- Y otras anomalías del SNC.

El tratamiento adecuado a la madre durante el embarazo, previene la sífilis congénita. El título de reagentes en la sangre del niño, asciende con la infección activa; pero baja con el tiempo si los anticuerpos sólo fueron transmitidos pasivamente por la madre. En la infección congénita, el niño elabora anticuerpos IgM antitreponemas.

D. Enfermedad experimental: El conejo puede ser infectado experimentalmente, en la piel, testículos y ojos con *Treponema pallidum* humano. El animal desarrolla un chancro rico en espiroquetas y el microorganismo persiste en los ganglios linfáticos, el bazo y la médula ósea durante toda la vida del animal, aunque no haya enfermedad progresiva.

Diagnóstico de laboratorio

Productos patológicos:

- **Exudados o líquidos tisulares** de las lesiones superficiales tempranas para la demostración de *Treponema pallidum* (campo oscuro).
- **Suero para pruebas serológicas**

Examen microscópico: Observación en campo oscuro buscando las espiroquetas móviles características.

Inmunofluorescencia: Se extiende líquido de tejidos o exudado en un portaobjetos, se seca al ambiente, se envía al laboratorio. Se fija, se colorea con suero antitreponemas marcado con fluoresceína y se examina con el microscopio de IF para observar las típicas espiroquetas fluorescentes.

Pruebas serológicas para Sífilis:

- Pruebas de antígenos NO treponémicos.
- Pruebas con anticuerpos treponémicos.

Inmunidad

Un individuo con sífilis activa o pian, parece ser resistente a una superinfección por *T. pallidum*. Sin embargo, si la sífilis temprana o el pian, son tratados prontamente y en forma adecuada, la infección es erradicada y el individuo se hace otra vez completamente susceptible. Las diversas respuestas inmunitarias por lo general no erradican la infección ni detienen su progreso.

Leptospiras

Morfología e identificación

Microorganismos típicos: Son bacterias espirilares, delgadas, flexibles, de 5 a 15 μm de longitud, que a menudo tienen uno de sus extremos encurvados, Sus vueltas de espira están muy apretadas, encontrándose de 0,1 a 0,2 μm una de otra. Tienen un activo movimiento de rotación, pero hasta la fecha no se les ha descubierto flagelos. Las micrografías electrónicas muestran un fino filamento axial y una membrana delicada. La espiroqueta es tan delicada que en el campo oscuro puede aparecer solamente como una cadena de cocos diminutos.

- **Cultivo:** Las leptospiras crecen mejor en condiciones aerobias entre 28 y 30°C. Se desarrollan en medios de cultivo semisólidos enriquecidos con suero fresco de conejo. (Fletcher u otros), donde producen colonias redondas de 1 a 3 mm de diámetro en seis a diez días. También pueden aislarse por inoculación intraperitoneal de cobayos y de la membrana corioalantoidea de huevos embrionados.
- **Requerimientos para el crecimiento:** Obtienen su energía de la oxidación de los ácidos grasos de cadena larga y no pueden utilizar aminoácidos o carbohidratos como fuentes energéticas importantes. Su recurso principal para la obtención del nitrógeno son las sales de amonio. El microorganismo puede sobrevivir durante largos períodos en agua, particularmente a Ph alcalino.

Patogenia

Las leptospiras tienen como hábitat natural a los animales (roedores, cerdo, ganado, etc.). La infección humana es el resultado de la ingestión de agua o alimentos contaminados con orina y/o heces de animales infectados por el microorganismo, menos frecuentemente los organismos pueden penetrar por piel o mucosas. Después de un período de incubación de una a dos semanas, se presenta una iniciación febril variable durante las cuales las espiroquetas se encuentran en la circulación sanguínea. El microorganismo se establece entonces en los órganos parenquimatosos (hígado, riñón, etc.), produciendo hemorragias y necrosis que se manifiestan por: ictericia, insuficiencia renal, sangramiento y anemia. El padecimiento a menudo es bifásico. Después de una mejoría inicial, se desarrolla la segunda fase cuando sube el título de anticuerpos IgM. Se manifiesta con frecuencia como una "meningitis aséptica", con cefalea intensa, rigidez del cuello y pleocitosis en el LCR. La hepatitis y la nefritis también pueden recurrir y es posible que haya lesiones en piel, músculos y ojo. El grado y distribución de la invasión de órganos varían en

los diferentes padecimientos producidos por distintas leptospiras en las diversas partes del mundo. Muchas infecciones son leves o subclínicas. En los individuos con leptospirosis, es particularmente frecuente, la hepatitis. La orina del hombre puede contener espiroquetas en la segunda y tercera semana de la enfermedad.

Inmunidad

Después de la infección sigue una inmunidad sólida específica del serovar, pero pueden producirse reinfecciones con serovares diferentes.

Diagnóstico de laboratorio

Productos patológicos

- **Sangre.** Para observación microscópica, cultivo e inoculación a animales (cobayos).
- **Suero.** Para reacciones de aglutinación.

Observación microscópica

- Sangre.
- Orina.

El examen microscópico al campo oscuro o frotis gruesos teñidos con Giemsa, muestran ocasionalmente leptospiras en sangre recién obtenida de enfermos con infección temprana. El examen de orina en campo oscuro sometida a centrifugación puede ser positivo.

- **Cultivo.** Los medios de cultivo para aislamiento de leptospiras deben contener suero de conejo al 10% (son líquidos o semisólidos). El crecimiento es lento y es necesario conservar los cultivos varias semanas.
- **Inoculación a animales.** Una técnica muy sensible para el aislamiento de leptospiras consiste en la inoculación intraperitoneal en cricetos o cobayos jóvenes de plasma y orina recién obtenidos. A los pocos días las espiroquetas pueden ser demostradas en la cavidad peritoneal; a la muerte del animal (8 a 14 días), se observan lesiones hemorrágicas con espiroquetas en muchos órganos.
- **Serología.** Durante la infección por leptospiras, se desarrollan lentamente anticuerpos aglutinantes que alcanzan títulos muy altos (1: 10,000 o mayores), alcanzando su máximo de cinco a ocho semanas después de la infección. El anticuerpo leptospiral puede descubrirse mediante pruebas macroscópicas de aglutinación en portaobjetos, utilizando leptospiras

mueratas o por aglutinación microscópica de microorganismos vivos. La absorción cruzada de los sueros puede permitir la identificación de una respuesta de anticuerpo específica para un serovar. La aglutinación de suspensiones vivas es más específica para el serovar y puede ir seguida por lisis. En ocasiones se utiliza la hemaglutinación pasiva de eritrocitos con leptospiras adsorbidas.

5.7. Chlamydias

Constituyen un grupo de parásitos intracelulares que están íntimamente relacionados con las bacterias Gram (-).

Se dividen en 2 especies: **trachomatis** y **psitacii**, sobre la base de:

- Su composición antigénica.
- Inclusiones intracelulares sensibles a las sulfonamidas.
- Producción de enfermedad.

Todas muestran características morfológicas semejantes, comparten un antígeno común y se multiplican en el citoplasma de sus células huésped mediante un ciclo distintivo de desarrollo.

Al principio eran consideradas como virus por su parasitismo intracelular, sin embargo, se diferencian en varias características:

- Poseen ADN y ARN.
- Se multiplican por fisión binaria.
- Tienen pared celular rígida semejante al tipo de pared celular de las bacterias, pero que carece de ácido murámico y no es susceptible a la acción de la lisozima.
- Poseen ribosomas y los virus NO.
- Tienen diversas enzimas activas metabólicamente; por ejemplo: liberan CO₂ a partir de la glucosa. Algunos pueden sintetizar folatos.
- Su crecimiento puede ser inhibido por múltiples antimicrobianos, en especial tetraciclinas y eritromicinas.

Las Chlamydias pueden considerarse bacterias Gram (-) que carecen de algunos mecanismos para la producción de energía metabólica y no pueden sintetizar ATP. Este defecto las obliga a una existencia intracelular, donde la célula huésped proporciona los intermediarios ricos en energía.

Tienen un ciclo de reproducción en tres fases:

- a. Adherencia.
- b. Penetración.
- c. Transformación del cuerpo inicial y formación de cuerpos elementales hijos.

Todas comparten una sucesión general de etapas en su reproducción. La partícula infecciosa es una célula pequeña (“cuerpo elemental”) de aproximadamente $0,3 \mu\text{m}$ de diámetro con un nucleoide denso al paso de los electrones; éste es ingerido por la célula huésped por fagocitosis. A partir de la membrana superficial de la célula huésped, se forma una vacuola alrededor de la pequeña partícula. Esta partícula pequeña se reorganiza en una de mayor tamaño (cuerpo reticular, cuerpo inicial) que mide aproximadamente $0,5$ a $1 \mu\text{m}$, la cual se encuentra desprovista de nucleoide denso a los electrones. Con la vacuola unida a la membrana, crece de tamaño el cuerpo reticulado y se divide repetidas veces por fisión binaria. Finalmente, la vacuola completa se encuentra llena de pequeñas partículas derivadas de la fisión binaria de los cuerpos reticulares para formar una “inclusión” en el citoplasma de la célula huésped. Las pequeñas partículas recién formadas pueden liberarse de la célula huésped para infectar a otras células. El ciclo de desarrollo requiere de 24 a 48 horas.

La *Chlamydia trachomatis* produce:

Tracoma: Infección ocular que sigue un curso crónico y evoluciona hacia la ceguera. Se conoce desde la antigüedad. Fue bien descrita en el papiro de Ebers, el cual se escribió en Egipto hace 3,800 años. Es una queratoconjuntivitis crónica que comienza con cambios inflamatorios agudos en la conjuntiva y en la córnea y que progresa hasta producir fibrosis y ceguera.

Los inmunotipos D a K de *C. trachomatis* son causa común de enfermedades venéreas e infección ocular como:

- Conjuntivitis de inclusión: Se debe a una autoinoculación con secreciones genitales y se le llamó inicialmente “conjuntivitis de las piscinas”. También puede ser adquirida a través del paso por el canal del parto.
- Neumonía neonatal: (contraída al pasar por el canal del parto).
- Uretritis NO gonocócica.
- Raramente produce epididimitis en varones.

- En mujeres causa: cervicitis, salpingitis y enfermedad inflamatoria pélvica.

Los inmunotipos **L1 a L3 de C. trachomatis** producen el **Linfogranuloma venéreo (LGV)**, que es una enfermedad sexualmente transmitida que se caracteriza por adenitis inguinal supurativa que es común en clínicas tropicales.

5.8. Mycoplasma

Se trata de células muy pequeñas que carecen de pared celular estando limitadas solamente por una membrana citoplasmática, lo que las hace adoptar formas disímiles (esféricas, piriformes, filamentosas). La especie más importante para la medicina es el *Mycoplasma pneumoniae*, que provoca una infección respiratoria conocida como Neumonía atípica primaria.

5.8.1. Rickettsias

Pequeños cocobacilos pleomórficos que se tiñen mal con el colorante de Gram, pero pueden observarse al microscopio coloreados por técnicas especiales. Las células tienen todas las estructuras de las bacterias Gram (-) pero son parásitos intracelulares.

Las Rickettsias son parásitos naturales de los artrópodos pudiendo afectar a los animales superiores y al hombre, produciendo el tifus epidémico y diversas reacciones febriles.

5.8.2. Flora normal del cuerpo humano

Un número indeterminado de microorganismos suelen hallarse en forma transitoria o permanente en diferentes zonas anatómicas del cuerpo humano, tanto en áreas externas (piel, mucosas, etc.), como en áreas internas (faringe, intestino, vagina, etc.), sin que esto signifique necesariamente que estén produciendo a esos niveles cuadros infecciosos.

Estos microorganismos son considerados como miembros de la flora microbiana normal.

El término “flora microbiana normal” se refiere a la población de microorganismos que residen en piel y membranas mucosas de personas normales sanas. Es dudoso si existe una flora viral normal en el hombre.

La piel y las mucosas hospedan siempre a una gran variedad de microorganismos, los cuales pueden ser divididos en 2 tipos:

- a. Flora residente.
- b. Flora transitoria.

La flora residente. Está compuesta de tipos relativamente fijos de microorganismos, los cuales se encuentran constantemente en un sitio dado a una edad dada. Si se les transforma, se restablece inmediatamente con rapidez.

Ej.: Lavado de las manos en el acto quirúrgico.

La flora transitoria. Está formada por microorganismos no patógenos o potencialmente patógenos hospedados en la piel o las mucosas durante horas, días o semanas, provienen del ambiente, no producen enfermedad y no se establecen por si mismos permanentemente sobre la superficie.

Los miembros de la flora transitoria son generalmente de poca significación, sin embargo, si la flora residente sufre alteraciones, los microorganismos transitorios pueden colonizar, proliferar y producir enfermedad.

Papel de la flora residente

Los microorganismos que están siempre presentes en la superficie del cuerpo son comensales. Su presencia no es esencial para la vida ya que se pueden criar animales “libres de gérmenes” que carecen completamente de una flora microbiana normal.

Sin embargo, la flora residente de algunos sitios desempeña un papel definido en el mantenimiento de la salud y de las funciones normales.

Algunos miembros residentes de la flora intestinal sintetizan vitamina K y ayudan a la absorción de los nutrientes.

En las mucosas y la piel, la flora residente normal, puede prevenir su colonización por bacterias patógenas y finalmente la producción de enfermedad mediante el proceso de “interferencia microbiana”.

Por otro lado, los miembros de la flora normal pueden por si mismos causar enfermedades bajo ciertas condiciones. Ej.:

- Cándida albicans.
- Enterobacterias.
- Estreptococo viridans.
- Estos microorganismos por estas razones se les denomina **oportunistas**.

Flora normal de la piel

Debido a su constante exposición y contacto con el ambiente, la piel es capaz de albergar microorganismos transitorios. Sin embargo, existe una flora residente constante y bien definida, modificada en diferentes sitios anatómicos por las

secreciones, el hábito de llevar ropa o la proximidad de las mucosas (boca, nariz y áreas perianales).

Los microorganismos que predominan son:

- Bacilos difteroides (aerobios o anaerobios).
- Estafilococos aerobios (*S. epidermidis*) y estafilococos anaerobios (peptococos).
- Bacilos Gram (+) aerobios.
- Estreptococos alfa hemolíticos (viridans).
- Estreptococos faecalis (enterococos).
- Bacilos coliformes Gram (-).
- Acinetobacter.
- A veces hongos y levaduras en los pliegues de la piel.
- Algunas mycobacterias ácido resistentes no patógenas en áreas ricas en secreciones sebáceas como: genitales externos, oído externo, etc.

Flora normal de la boca y de la parte alta del sistema respiratorio

En el momento del nacimiento son estériles, aunque pueden contaminarse a su paso por el canal vaginal.

4 a 12 horas después del nacimiento se establecen:

- Estreptococo viridans.

En los primeros meses de la vida:

- Estafilococos (aerobios y anaerobios).
- Diplococos Gram (-).
- Difteroides.
- Ocasionalmente lactobacilos.

Cuando comienza la dentición:

- Espiroquetas anaerobias.
- Bacteroides.
- Fusobacterias.
- Vibriones anaerobios.

- Lactobacilos.

En el adulto:

- Actinomicetos (amígdalas).
- Levaduras (boca).

Los organismos que predominan en el sistema respiratorio alto, particularmente en la faringe son:

- Estreptococos (no hemolíticos y alfa hemolíticos).
- Neisserias.
- Estafilococos.
- Difteroides.
- Algunas especies de haemophilus.
- Neumococo.
- Mycoplasma.
- Bacteroides.

Fosas nasales

- Corynebacterias.
- Estafilococos (aureus y epidermidis).
- Estreptococos.

Papel de la flora normal de la boca en las caries dentales

Flora normal del intestino

Al nacer: es estéril pero pronto son introducidos con el alimento.

En niños amamantados:

- Estreptococos lácticos.
- Lactobacilos.

Después de la ablactación:

- Coliformes.
- Cándida albicans, etc.

Flora normal de la Uretra

La porción anterior de la uretra de ambos sexos contiene un número pequeño de los mismos tipos de organismos hallados en la piel y el periné.

Flora normal de la vagina

Al nacer:

Lactobacilos de Doderlein, los que persisten mientras el PH es ácido. PH neutro (hasta la pubertad, mezcla de cocos y bacilos.

Pubertad:

Los Lactobacilos reaparecen contribuyendo al PH ácido.

Menopausia:

Los Lactobacilos disminuyen y reaparece la flora mixta.

La flora normal incluye:

- Clostridios.
- Estreptococos anaerobios.
- Estreptococos hemolíticos del grupo B.
- Bacterias coliformes.
- Cándidas s/p.

Flora normal de la conjuntiva:

- Difteroides (*Corynebacterium xerosis*).
- Neisserias.
- Bacilos Gram (-) pequeños (*Moraxellas*).
- Estafilococo epidermidis.
- Estreptococos no hemolíticos.

5.9. Infecciones nosocomiales. Concepto, clasificación

Las infecciones nosocomiales son “las que se adquieren dentro del hospital y que pueden manifestarse durante el internamiento del paciente o después del mismo”.

Su incidencia constituye un indicador de la calidad de la atención médica.

Estas infecciones son causa frecuente de morbilidad y mortalidad para los pacientes que se encuentran hospitalizados, sin olvidar que también pueden afectar al personal que allí labora y al personal de la comunidad que de cualquier modo interactúa con este medio.

La magnitud de esta problemática difiere en función de la complejidad del servicio de asistencia, evaluándose el incremento de riesgo de adquisición de una infección, entre otros factores, por la gravedad de la enfermedad de base del paciente que allí se encuentra y la agresividad de los métodos de diagnóstico y tratamiento.

Así los pacientes ingresados en servicios de Cuidados Intensivos, Neonatales, de Diálisis y Hemodiálisis, Oncología, Hematología y otros, deben ser objeto de una particular atención.

Las definiciones que se recomienda utilizar, para hacer comparable los trabajos de los investigadores de esta rama en el mundo, son las emitidas por el Centro para el Control de Enfermedades de Atlanta, Georgia, en Estados Unidos (Center for Disease Control) (CDC), donde **se define como nosocomial** a cualquier infección en la que:

No existen evidencias de que se encontraba presente o en período de incubación al momento del ingreso al hospital.

Aparece después de egreso y se relaciona con la hospitalización.

La infección de recién nacido que se adquiere como resultado del paso a través del canal del parto.

No se considera nosocomial:

- La infección que ocurre como complicación o extensión de otra presente al momento del ingreso, a menos que:
 - Se evidencie un cambio de patógeno.
 - Los datos clínicos sugieran nueva infección.
 - La infección en un niño que se sepa o se demuestre que ha sido adquirida por vía transplacentaria (herpes simple, toxoplasmosis, rubeola, citomegalovirus y sífilis) y que comienza precozmente tras el nacimiento.

En realidad, la evidente relación con la hospitalización es suficiente para el diagnóstico de sepsis nosocomial, independientemente del momento de aparición, durante la estadía o después del egreso.

Hacemos la observación, que para infecciones del plano operatorio se consideran intrahospitalarias aquellas que se presenten en los 30 días siguientes a la intervención y hasta el año, en el caso que se haya colocado una prótesis o implante.

Cada infección tiene sus características propias y deberá ser valorada individualmente, por ejemplo, es razonable considerar como IIH, la infección endógena de un paciente,

independientemente de si el organismo causal era portado por el paciente antes de su admisión al hospital o fue adquirido posteriormente, si el desarrollo de la enfermedad puede ser atribuido a procedimientos ejecutados en el hospital.

Antecedentes históricos:

El problema de las IIH se hizo patente desde el comienzo de los hospitales como instituciones de caridad, en el año 325 d.n.e., pero su presencia ligada a la cirugía es tan antigua como las intervenciones quirúrgicas de trepanación de cráneo, reducciones de fracturas y otras, practicadas por el hombre desde hace 3000 años a.n.e.

La historia de la medicina tiene destacadas presencias, que dedicaron su quehacer al conocimiento y prevención de las IN, ejemplos son Semmelweis (1818-1865), tocólogo húngaro, que fue el primero en exigir el lavado escrupuloso de las manos y uso del agua clorada, para evitar las infecciones en su servicio de Maternidad; Louis Pasteur (1822-1895) que estudió el proceso de fermentación en la cerveza y los vinos y demostró que se debía a los microorganismos procedentes del ambiente y de manera muy avanzada para su época, planteó que la causa de la putrefacción en el tejido animal se debía a la presencia de estos mismos gérmenes; José Lister (1827-1912) eminente cirujano inglés que publicó el estudio “El principio antiséptico en la práctica quirúrgica” y Roberto Koch (1843-1910) bacteriólogo alemán, que demostró que las bacterias constituían un agente causal de infecciones y publicó en 1877 “La causa de infección en las heridas”.

El conocimiento del problema mediante estudios aislados, se inicia más recientemente, en la década de los 50, con los estudios de focos de infección en los hospitales, por investigadores de Inglaterra, Escocia, y del CDC de Atlanta. Posteriormente, en los años 60 se llevan a cabo estudios más sistemáticos y organizados y es en la década de los 70 en que surgen en muchas partes del mundo Programas de Vigilancia y Control de las Infecciones Nosocomiales.

En Cuba, los precursores de la antisepsia fueron los doctores Raymundo Menocal y Gabriel Casuso, cirujanos que a finales del siglo XIX implantaron en el país, las técnicas descritas por Lister.

En épocas más recientes se fueron dando pasos que nos permitieron estar a la altura del desarrollo internacional, y así podemos mencionar las investigaciones realizadas en las décadas de los años 60-70, donde se logra el conocimiento de la incidencia de la IIH en Institutos y Hospitales del país.

En 1968 se crea el primer Comité de Prevención de la Infección Hospitalaria en el Hospital Clínico Quirúrgico “Enrique Cabrera”, que ya en el 1970, el Ministerio de Salud Pública, hace extensivo a todos los hospitales del país.

En el año 1974-1975, en la Ciudad de la Habana, se estructura la función de la Enfermera de Vigilancia Epidemiológica, que pasó a constituir uno de los pilares más importantes en este campo.

En 1983 se aprueba el “Programa de Prevención y Control de las Infecciones Hospitalarias”, que se aplicó con carácter nacional y se creó por resolución ministerial, un grupo de expertos llamado, “Grupo Nacional para la Prevención y Control de la Infección Hospitalaria”. En 1984 se publica el “Reglamento y Normas Nacionales para la Prevención y Control de la Infección Hospitalaria”. Estos documentos que constituyen instrumentos de trabajo, han sido actualizados periódicamente.

5.10. Métodos de control y lucha contra la infección intrahospitalaria o nosocomial

- a. La vigilancia epidemiológica responde a dos o tres modelos según los diversos países.
- b. El modelo americano se basa en el epidemiólogo clínico que lleva a cabo una vigilancia fundamentada en los informes del laboratorio y en el estudio de los enfermos directamente, basándose en estudios de incidencia.
- c. El modelo del Reino Unido, se basa en los aislamientos significativos que se realizan de marcadores microbianos y se lleva directamente por el microbiólogo clínico.

En la práctica, el microbiólogo avezado puede dar la alerta en la identificación de nuevas o potenciales infecciones, así como en la identificación de brotes epidémicos donde se consigue la identificación del agente causal, pero como no a todos los pacientes infectados, se les realiza cultivo, ni todos los agentes infecciosos pueden ser fácilmente identificados, basar la vigilancia exclusivamente en los cultivos microbiológicos, no es suficiente para el control de la infección y las informaciones disponibles en el laboratorio de microbiología deben ser completadas por las informaciones clínicas.

El Laboratorio puede tomar parte activa en la prevención de la IHH, sólo si en el hospital existe un programa de control organizado, con un Comité que formula la política hospitalaria con relación a los factores implicados en el tema y un equipo multidisciplinario de trabajo sensibilizado con la situación.

La constitución de este equipo, el papel específico de cada trabajador, y su tiempo de dedicación, depende del tamaño y naturaleza de la institución y de la naturaleza del programa local y nacional.

En Cuba, el trabajador base de este programa es usualmente un personal de enfermería especialmente entrenado, que se conoce con el nombre de “Enfermera Vigilante Epidemiológica”, que, en estrecha coordinación con el microbiólogo, epidemiólogo, y el resto de personal involucrado, llevan en la práctica las tareas de este Programa, unificándolas en el trabajo de los Comités de Control y Prevención de la IIH.

En general, se plantean **métodos de lucha contra la infección** que se aplican en los hospitales, y que el conocido **esquema de Eickhoff** clasifica como métodos de eficacia demostrada, de posible utilidad y de ineficacia probada.

Entre los métodos de eficacia demostrada destaca la esterilización, el lavado de manos, el sistema cerrado de recogida de orina, los cuidados del catéter endovenoso, algunos tipos de profilaxis antimicrobiana perioperatoria y la utilización restringida de equipos de terapia respiratoria.

Los métodos cuya eficacia es dudosa, aunque pueden ser útiles en la clínica son, el aislamiento de los enfermos y la educación y concienciación del personal de los hospitales.

Entre las actuaciones de ineficacia probada incluyen procedimientos tan difundidos como la desinfección de suelos, paredes y superficies, la nebulización ambiental con desinfectantes, el uso de rayos ultravioletas, el flujo laminar, la quimioprofilaxis en cirugía limpia, el uso de filtros en sueros endovenosos y el muestreo microbiológico ambiental.

Existe consenso en señalar el gasto económico impropio debido al empleo de estas medidas ineficaces y muy costosas.

Entre los procedimientos microbiológicos, tanto el muestreo ambiental, como otros estudios microbianos, deben ser empleados cuando permitan comprobar las sospechas clínicas y apoyar el pensamiento epidemiológico y nunca deben ser utilizados de manera indiscriminada y mucho menos para demostrar deficiencias higiénicas, realizándose el estudio sólo de aquellas muestras que sean importantes para las actividades de vigilancia y control, ya que de otro modo, lo único que se logra es atiborrar los laboratorios de trabajo, con resultados a los cuáles no se les puede dar una posterior interpretación.

Un ejemplo típico de falsear la información de los resultados microbiológicos es lo que ocurre en la vigilancia epidemiológica de la resistencia de las bacterias a los antimicrobianos, cuando cepas bacterianas de una misma especie y con el mismo antibiograma, resultan aisladas repetidamente de una misma fuente, y el reconocimiento de la repetición del dato, con fines de descartarlo en los informes de carácter epidemiológico, se hace un problema difícil a resolver en la práctica, a menos que se haya contemplado en el proceso de informatización del laboratorio.

5.10.1. Sitios de infección, fuentes y vehículos de infección y vías de transmisión

Los sitios más frecuentes de infección intrahospitalaria son:

- a. (El orden de frecuencia varía en dependencia del tipo de institución).
- b. Infección de la herida quirúrgica: Se les divide en infecciones de la incisión quirúrgica (incisionales) e infecciones que afectan a estructuras adyacentes que fueron invadidas o expuestas durante una operación (a veces denominadas “infecciones profundas”).
- c. Infección urinaria: Se considera la bacteriuria asintomática y la bacteriuria sintomática.
- d. Infección respiratoria.
- e. Bacteriemia o septicemia primaria.
- f. Infección del catéter: Se distinguen aquí cuatro situaciones, la contaminación, la colonización, la infección “clínica” y las infecciones “bacteriémicas” por catéter.

El diagnóstico de infección intrahospitalaria de estos sitios y otros no mencionados por menos frecuentes, debe estar avalado por los criterios establecidos por los organismos internacionales y adoptados para su uso local.

Las fuentes y vehículos de infección son:

- a. La flora indígena del paciente, que produce una infección endógena.
- b. Agentes provenientes de otro paciente (“infección cruzada”), que pueden transmitirse por contacto directo, por el personal del hospital y por objetos de uso contaminados.

- c. La flora indígena del personal del hospital y visitantes, o microorganismos que estos acarrean como “portadores”, o por su eventual situación de enfermos, y que lleguen al paciente por contacto directo o por objetos de uso contaminados.
- d. Microorganismos presentes en los alimentos, el agua o el medioambiente.

Las vías de transmisión. Se contemplan cuatro vías:

- a. El contacto directo.
- b. La vía aérea.
- c. La vía oral.
- d. La vía parenteral.

Conociendo las múltiples causas que están presentes en la posibilidad de adquirir una infección hospitalaria, y las diversas localizaciones en que se puede manifestar ésta, se ha propuesto el establecimiento de un “programa por objetivos” de lucha contra la infección, donde la vigilancia, tanto epidemiológica, como microbiológica se ejerce sobre los riesgos específicos y así tenemos la vigilancia sobre pacientes sometidos a los riesgos de la ventilación asistida, de cateterismos endovenos, sonda vesical, o a los métodos diáliticos, por mencionar algunos de los más frecuentes.

5.11. Agentes etiológicos en las Infecciones Intrahospitalarias

Los microorganismos que con más frecuencia causan IIH y a su vez los más estudiados son bacterias del tipo de las *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Enterococcus spp*, *S. aureus*, estafilococos coagulasa negativa y *Enterobacter spp*. Se han reportado también bacterias anaerobias, *Legionella spp* y agentes micóticos, virales y parasitarios. Dentro de los hongos la *Candida albicans* es la especie más encontrada, otras especies de *Candida*, los *Aspergillus spp*, la *Torulopsis* y otros hongos son aislados con menos frecuencia.

La etiología viral de una infección nosocomial, aunque sospechada, es pocas veces confirmada, fundamentalmente por la dificultad que implica el realizar estos diagnósticos etiológicos.

Las infecciones nosocomiales virales se localizan con mayor frecuencia en el tractus respiratorio y el gastro intestinal, son producidas por agentes virales como el Virus Sincitial Respiratorio, Citomegalovirus, Virus del Herpes Simple y Rotavirus.

El riesgo de adquirir una infección nosocomial por rubeola, sarampión y varicela, es alto entre los trabajadores de la salud susceptibles o no inmunizados También la

hepatitis viral puede ser adquirida, por contacto con sangre positiva a antígenos de la hepatitis de pacientes y de donantes y aunque reducido, no podemos olvidar el riesgo tanto para trabajadores como para pacientes, de la adquisición del Virus del SIDA.

Las IIH producidas por parásitos son relativamente pocas en comparación con los otros agentes microbianos, y la mayoría de las veces han sido estudiados por causar infecciones en pacientes con SIDA, dentro de estos tenemos al *Pneumocystis carinii*, el *Toxoplasma gondii*, y el *Cryptosporidium* spp.

El Laboratorio de Microbiología en función de la prevención y control de la IIH

Los Laboratorios de Microbiología tienen varias funciones:

1. Realizar la identificación de los microorganismos responsables de infecciones nosocomiales y determinar los patrones de resistencia a los distintos antimicrobianos.
2. Aplicar métodos para el establecimiento de microorganismos como responsables de brotes epidémicos y en caso de epidemias realizar cultivos para establecer patrones de colonización.
3. Tomar parte en la planificación del programa del hospital de prevención y control de infecciones y en la educación del personal de todas las categorías, que allí labora, en los correctos procedimientos de higiene.

Valorar las posibles muestras a estudiar, describiendo su procedencia de los sitios de infección, las fuentes y vehículos de infección y las vías de transmisión y así como son de heterogéneas las muestras a estudiar, lo son también los procedimientos de laboratorio y la competencia microbiológica comienza con el pensamiento lógico en la selección de las muestras y las correctas instrucciones para la recolección de las mismas y su conservación y traslado al laboratorio.

La recolección y transporte de muestras puede exponer al personal del laboratorio y del hospital a contraer una IIH. Por eso en todos los procedimientos se tienen que cumplir las normas de bioseguridad y respetar las "Precauciones Estándar", diseñadas para reducir el riesgo de transmisión de patógenos transmitidos por sangre y también por otros patógenos.

Es indispensable la correcta selección del método de siembra, de los medios de cultivo, las condiciones de incubación y de las etapas en el proceso de identificación de un supuesto agente etiológico, para la interpretación acertada de los resultados.

El laboratorio debe ser capaz de aislar y reconocer hasta en especie a la mayoría de los microorganismos productores de infecciones nosocomiales, incluyendo a los anaerobios, pero identificaciones más detalladas, pueden ser importantes en algunos tipos de microorganismos. Una decisión es, hasta donde llegar en el diagnóstico.

Si bien la mayoría de los diagnósticos etiológicos para la atención médica al paciente, resultan suficientes con el aislamiento del agente, su biotipificación, su serotipificación y el estudio de su resistencia antimicrobiana; los intereses de una investigación epidemiológica pueden exigir la caracterización más exhaustiva de una cepa o de un grupo de cepas, con técnicas más sofisticadas, y que incluyan el completo análisis antigénico, la susceptibilidad a los bacteriófagos, la susceptibilidad y producción de bacteriocinas, la tipificación molecular por análisis del ADN cromosomal u otras técnicas enzimáticas y moleculares y diagnósticos virales y fúngicos, que pueden ser esenciales y si no es posible su realización en el hospital, se deben coordinar en Centros de Referencia, pero sólo deben ser utilizados con objetivos epidemiológicos bien definidos y nunca de manera indiscriminada.

A.- Estudios de diagnóstico y vigilancia de la IIH

I.- Medio ambiente animado:

Pacientes

El buen diagnóstico de la infección del paciente es el proceder más importante a realizar por el laboratorio. Para esto se siguen los procedimientos y normas vigentes en los laboratorios de las instituciones hospitalarias y como ya hemos señalado, en la mayor parte de los aislamientos, es suficiente con la identificación del microorganismo en especie y el estudio de su resistencia antimicrobiana, que generalmente se hace por el método de difusión de Bauer y Kirby.

El trabajador del laboratorio debe estar alerta ante la aparición de microorganismos similares de muestras de más de un paciente, ya que este hallazgo podría dar el aviso de la ocurrencia de un brote.

Una situación particular se presenta en el estudio de una pequeña proporción de pacientes, ingresados principalmente en ciertos departamentos especiales como una unidad de cuidados intensivos, o de transplante de órganos, a los que puede ser necesario someter a un monitoreo continuo (vigilancia microbiológica), para detectar la aparición de microorganismos patógenos potenciales. El número de sitios del cuerpo a examinar deben ser limitados por consideraciones prácticas, a aquellos que revelen hallazgos de interés y usualmente esta vigilancia se efectúa sobre las secreciones recolectadas a través de la traqueostomía y lugares donde se ha implantado una cánula u otro dispositivo.

El objetivo es determinar la colonización del sitio por patógenos potenciales y vigilar la diseminación de cepas particulares de microorganismos entre los pacientes.

Personal

El examen de muestras de miembros saludables del equipo de salud, de quienes no se sospecha sean responsables de infecciones entre los pacientes, es rara vez de inmediato valor como medida preventiva, pero ocasionalmente se realizan por propósitos educativos.

La búsqueda de portadores de *Streptococcus* del grupo A en faringe, ha cesado en la mayoría de los hospitales porque cuando se sigue el propósito de reducir activamente el número de portadores, se incrementa la frecuencia de cepas altamente resistentes.

En el caso de realizarse cultivos del personal, es importante explicar cuáles son los objetivos de dichos cultivos, ya que en ocasiones estos pueden ser motivo de inquietud y malestar entre los trabajadores.

Los sitios más muestreados incluyen áreas de la piel, las fosas nasales, la faringe y el intestino bajo.

El cultivo de manos del personal es importante si se sospecha transmisión cruzada entre diversos pacientes.

Las muestras de las manos producen un pequeño número de estafilococos que pueden haber sido transitoriamente adquiridos de fuentes externas, por eso las manos no deben ser muestreadas de rutina, sino cuando alguna lesión esté presente. Sin embargo, en determinadas situaciones, el aislamiento repetido de la misma cepa de estafilococos de las manos, en ausencia de un portador nasal, puede indicar que el sujeto es un portador perianal.

El aislamiento de microorganismos de la superficie del cuerpo o de una secreción, no necesariamente indica que sea un microorganismo establecido en ese sitio, puede ser un contaminante de una fuente externa o de otro sitio de la misma persona. La significación de un hallazgo particular puede, dependiendo del sitio de la muestra y del número de microorganismos presentes, estar en relación con la reiteración del aislamiento y aun así, las interpretaciones no son siempre fácilmente realizadas.

Las actividades médicas implican riesgos reconocidos para adquirir hepatitis viral, SIDA y tuberculosis. La influenza, enfermedades por meningococos, sarampión, varicela, herpes simple, rotavirus, rubeola y patógenos intestinales, pueden también ser un problema en circunstancias particulares. Las medidas higienico sanitarias, sean las habituales o las descritas como Precauciones Estándar, disminuirán de manera importante los riesgos de adquirirlas y es más importante el uso del servicio

de salud de los trabajadores, para detectar personas que tengan una enfermedad infecciosa, o que sean portadores, que los estudios de rutina.

La presente opinión es que los portadores deben ser estudiados solo cuando la fuente de una infección específica esté bajo investigación.

CAPÍTULO VI: MEDIO AMBIENTE INANIMADO

Carlos Antonio Escobar Suárez. Md. MSc.

Hospital General Docente “Ambato”

Universidad Central del Ecuador

María Cecibel Vera Marquez. MSc.

Universidad Técnica de Babahoyo

María José Terán Bejarano. Md. MSc.

Hospital General Docente “Ambato”

6.1. Aire y superficies

Los muestreos de aire para evaluación microbiológica no deben ser ejecutados de manera rutinaria, pero pueden ser requeridos en alguna ocasión por sospecha por infecciones por *Legionella* spp y *Aspergillus* spp, o para monitorear salones de operaciones.

Las muestras del medio ambiente pueden ser requeridas para detectar un reservorio de microbios que pueda tener significación en la ocurrencia de un episodio de infección, en este caso el objetivo es detectar una cepa microbiana particular, pero su detección no lleva automáticamente a la conclusión que la infección de esa fuente contaminada fue responsable del brote. Se necesita establecer que la infección de esa fuente y no de otra, pudo llegar causar la infección a todos o a la mayoría de los pacientes implicados. En oportunidades se hacen aislamientos de fuentes ambientales alternativas a las cuales es imposible dar explicación.

Cuando el muestreo es requerido, éste puede ser realizado por el método de “placa expuesta”, que es un método gravimétrico o por técnicas volumétricas más sofisticadas, para las que existen equipos de varias firmas comerciales.

En todos los casos, es deseable contar con un “patrón microbiano” del local, realizado en condiciones ideales y que va a servir como punto de comparación.

Los conteos altos de microorganismos en el aire, generalmente son atribuibles a la presencia de demasiadas personas en el lugar, a un excesivo movimiento del personal y a deficiencias de climatización. Factores todos que pueden ser fácilmente detectados por observación.

No se recomienda el método bacteriológico como procedimiento de rutina en el control de ambiente de salones de operaciones, ni de otros ambientes especiales, a menos que por cuestiones muy bien definidas, sea imposible utilizar otro método de control.

En todos los casos es desaconsejable su uso con propósitos educativos.

Las superficies tienden a ser irregularmente contaminadas y los resultados de los estudios bacterianos son difíciles de evaluar.

Las muestras de rutina de superficies generales tales como pisos, paredes y artículos que no están en contacto directo con el paciente o el personal, dan resultados que solo pueden ser relacionados con riesgos definidos de infección. Si es necesario, deben ser realizados conteos cuantitativos o semicuantitativos de la contaminación por unidad de área de superficie y el área debe ser suficientemente grande, para minimizar el efecto de la contaminación irregular.

La posibilidad de asociar contaminación del medio con una falla de la técnica de desinfección es mayor cuando el patógeno es un bacilo Gram negativo. Con los cocos Gram positivos es usualmente imposible distinguir entre contaminación por vía aérea o por contacto.

Las pruebas para la presencia de patógenos específicos sobre las superficies, solo sirve para propósitos limitados.

6.2. Equipos de esterilización

Todos los equipos de esterilización deben ser controlados periódicamente con la observación del cumplimiento de los parámetros físicos requeridos para su buen funcionamiento (temperatura, tiempo, presión) y con los controles químicos inherentes a la naturaleza de cada proceso.

El uso del monitoreo bacteriológico debe estar confinado a los procesos en los cuales los adecuados monitoreos físicos y químicos no son practicables y al estudio inicial y posteriormente al chequeo periódico de procesos que están siendo regularmente monitoreados desde el punto de vista físico y químico, con el objetivo de detectar posibles errores técnicos que no hayan sido puestos de evidencia por los controles físicos y químicos de rutina.

Los sistemas de esterilización por vapor y gas de óxido de etileno deben ser estudiadas por lo menos una vez por semana con una preparación de esporas vivas.

Estos estudios bacterianos usualmente se realizan con preparaciones con un número conocido de esporas de bacterias vegetativas. Estos dispositivos de prueba son colocados en el equipo en forma similar al material a procesar.

Las cepas bacterianas apropiadas para uso como indicadores biológicos son específicas de acuerdo a las características del proceso de esterilización y así se utilizan para las autoclaves esporas de *Bacillus stearothermophilus* (No. NCTC

10003) y para la esterilización en horno (calor seco) y esterilización por óxido de etileno, esporas de *Bacillus subtilis* (No. NCTC 10073).

6.3. Soluciones desinfectantes

La contaminación de desinfectantes y antisépticos ha sido implicada en brotes de IN, pero los análisis bacterianos de estos componentes requieren medios especializados que no se encuentran de rutina en la mayoría de los laboratorios de microbiología clínica y cuando se sospecha contaminación de estos productos comerciales estériles se debe notificar de inmediato al personal de control de infecciones.

En la práctica hospitalaria se recomienda el muestreo regular de las “diluciones en uso”, de los desinfectantes que se estén aplicando siguiendo el método de Kelsey y Maurer.

6.4. Catéteres

Catéteres y agujas pueden cultivarse usando métodos semicuantitativos, como los planteados por Maki y en situaciones específicas se utilizan métodos cuantitativos como el de Cleri.

Los resultados de estos métodos, unidos a la observación de signos locales o generales de infección, avalados por los hallazgos de los cultivos de sangre, permiten hacer la distinción entre contaminación, colonización, infección “clínica” del catéter o infección “bacteriémica”, considerando como:

- **Contaminación del catéter:** cultivos positivos de la extremidad del catéter, a una cifra no significativa, en cultivos cuantitativos o semicuantitativos, en ausencia de signos locales o generales de infección
- **Colonización del catéter:** presencia de un cultivo positivo de la extremidad del catéter, en cantidad “significativa” (>15 unidades formadoras de colonias (UFC) por la técnica semicuantitativa, >1000 UFC/ml en la técnica cuantitativa), en ausencia de signos generales de infección atribuibles al catéter. Localmente puede existir un eritema, pero sin supuración local franca. La colonización puede provenir de un foco a distancia a los mismos microorganismos que son aislados del catéter.
- **Infección “clínica” del catéter:** presencia de un cultivo positivo de la extremidad del catéter (> 15 UFC por la técnica semicuantitativa, >1000 UFC/ml en la técnica cuantitativa) en presencia de signos generales o locales de infección, con evidencia de alguno de los síntomas cuando se retira el catéter.

- **Infecciones “bacteriémicas” del catéter:** presencia de un cultivo positivo de la extremidad del catéter (>15 UFC por la técnica semicuantitativa, >1000 UFC/ml en la técnica cuantitativa), asociado a una bacteriemia secundaria por el mismo microorganismo aislado del catéter, en ausencia de otros focos infecciosos a ese microorganismo.

Si no es posible retirar el catéter, una infección del catéter puede ser también identificada, si la sangre tomada por el catéter contiene más de 5 a 10 veces el mismo microorganismo que la sangre tomada en periferia.

6.5. Alimentos y otras muestras

Puede ser necesario el muestreo de un número de otras sustancias que la experiencia ha demostrado que pueden resultar contaminadas, estas incluyen la leche humana, alimentos para niños, jabones y otros productos.

Un acápate aparte merece el estudio de las aguas utilizadas en los servicios de Diálisis y Hemodiálisis. Al agua utilizada en la preparación del dializado y al fluido obtenido al final del tratamiento se les debe hacer conteos de colonias para determinar el parámetro de “satisfactorio”.

El cultivo del agua es particularmente importante en casos de brotes de infecciones producidas por *Legionella* spp, a partir de sistemas de climatización contaminados.

6.6. Estudios de brote de IIH

Para decidir el estudio de un brote de IIH, lo primero es conocer cuando estamos en esta situación y esto se define por la presencia de dos o más casos en una sala, servicio o institución de salud, que guarden relación entre sí y que se compruebe que son producidos por una fuente común, en un período limitado de tiempo y que excede los límites de la incidencia habitual.

Solo una pequeña proporción de IIH forma parte de un brote definido y ese debe ser reconocido rápidamente.

Por otra parte, una epidemia de infección hospitalaria es definida cuando existe un aumento significativo de la tasa esperada de la infección en cuestión, superior a la que se había encontrado ($p < 0,05$).

Si solamente un agente etiológico está involucrado en la epidemia, el objetivo de la investigación epidemiológica será la identificación de la fuente de infección y el mecanismo de transmisión del agente, y ambos tienen que ser avaladas por criterios microbiológicos.

Por definición, todas las epidemias intrahospitalarias son prevenibles, lo que resalta la importancia de la investigación de las mismas lo más pronto posible, pero a pesar de la vigilancia epidemiológica activa y el establecimiento de medidas de control, los brotes epidémicos siempre ocurrirán por la presencia de pacientes susceptibles expuestos a graves riesgos.

Para la decisión de las muestras a tomar durante un brote epidémico es muy importante tener en cuenta el tipo de infección, el número de pacientes involucrados, su relación epidemiológica, el personal involucrado en su cuidado y los posibles mecanismos de transmisión, incluyendo: las manos del personal, los instrumentos, medicamentos, catéteres, procedimientos o intervenciones comunes a todos ellos.

Brotes o epidemias pueden ser identificados gracias al aislamiento de una cepa única, de un grupo de pacientes infectados con un microorganismo adquirido o no en el hospital.

La identificación de estas cepas en especie y el hallazgo de un único patrón de resistencia pueden ser suficientes para establecer la presencia de un brote con relación a una cepa única. Sin embargo, cuando una especie de un organismo es un miembro frecuente de la flora indígena o ambiental se requieren de métodos más complejos de diferenciación.

Al emplear dichos métodos debe de tenerse presente un objetivo epidemiológico, ya que de lo contrario es posible obtener resultados confusos y hasta conflictivos; debe de tenerse en cuenta la variabilidad del método, por lo que las pruebas de tipificación deben realizarse bajo las mismas condiciones y en el mismo tiempo, incluyendo controles con cepas no relacionadas en el brote. Entre los métodos utilizados se incluyen: biotipificación, infección por fagos, bacteriocinas, serotipificación, análisis de DNA plasmídico, o cromosómico, hibridación con sondas de DNA, electroforesis de proteínas, análisis de RNA ribosomal, y amplificación de DNA por el método de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Estos métodos son usados para subdividir grupos de microorganismos, generalmente miembros de una especie, de manera que sea posible precisar si poseen el mismo patrón tipo o no. Cuando los microorganismos difieren en esta caracterización, se asume son epidemiológicamente distintos; así es posible eliminar infecciones o fuentes de infecciones que no son relevantes en el incidente bajo investigación. Cuando los organismos tienen el mismo patrón tipo, tomamos como evidencia la relación epidemiológica.

Ninguna aseveración es siempre verdadera, y la fuerza de la evidencia en pro o en contra de la relación de la cepa, depende de dos características del sistema de tipaje usado.

1) Discriminación: Esto es la habilidad del sistema de dividir organismos en un gran número de tipos. Donde el uso de sistemas de tipaje con bajo poder de discriminación, puede dar lugar a falsas atribuciones de infecciones a fuentes de las cuales ellas no fueron emanadas. También si se encuentra una alta proporción de cepas no tipables, el sistema de tipaje puede tener poco valor.

2) Reproducibilidad: Desdichadamente no existe una totalmente reproducibilidad de los sistemas de tipaje. De la carencia de reproducibilidad, a menos que ésta sea reconocida, puede resultar que aislamientos epidemiológicamente relacionados, sean considerados como diferentes entre sí.

Además de cambios genéticos, puede ocurrir variación fenotípica en clones de organismos en el medio natural y en algunos métodos de tipaje hay también variaciones técnicas incontrolables.

El tipaje de las cepas es requerido:

4. En brotes o sospecha de brotes de infección, para definir la extensión del brote, detectar contactos asintomáticos infectados y revelar reservorios ambientales del microbio causal.
5. En estudios continuos de situaciones definidas, para determinar hasta donde una infección ha sido diseminada y las diferentes vías y evaluar las medidas preventivas a instaurar.
6. En la vigilancia microbiana de pacientes bajo control especial, en servicios de cuidados intensivos, trasplante y otros; en orden de ser capaz de reaccionar tempranamente cuando exista una tendencia a la acumulación de patrones idénticos.

Mapa Microbiano del Hospital

Con los resultados que obtiene el laboratorio del procesamiento de las muestras de las diferentes procedencias hospitalarias, se confecciona el mapa microbiano de la unidad, que está dado por los elementos siguientes:

Microorganismos: se definen tipos y patrones de resistencia a los antimicrobianos.

Áreas: Se individualizan los diferentes servicios o especialidades.

Fechas: Se determinan tendencias en el tiempo.

Estos elementos permitirán el conocimiento dinámico de la circulación de microorganismos en los diferentes servicios, sus patrones de resistencia antimicrobiana y apoyan las medidas efectivas que se deban tomar, si fuera necesario.

Una recolección metódica de estos resultados puede conducir a los análisis de frecuencia y tipos de infección que están ocurriendo bajo condiciones diferentes y en varios momentos, lo cual resulta muy valioso para el conocimiento de situaciones médicas particulares, así como para la epidemiología hospitalaria y la ejecución de investigaciones sobre este tema.

6.7. Naturaleza del medio y de la población bacteriana

En el ambiente de los hospitales y en menor escala en los lugares donde acuden enfermos (policlínicas, consultorios), concurren todos los elementos explicados anteriormente: aire, agua, alimentos, cuyo conjunto conforma el ambiente inanimado que guarda íntima relación con las infecciones nosocomiales y puede contribuir a la aparición de casos esporádicos o brotes de enfermedades, proporcionando focos de contacto y transmisión por vehículo común. Sin embargo; no se debe prestar una excesiva atención a la presencia de microbios en los objetos del ambiente inanimado, y menos aún, considerar que tal presencia representa de por sí, evidencia de un foco peligroso de infección. Tal supuesto puede conducir a malgastar recursos humanos y materiales en medidas de control ambiental que nada resuelven. En tales casos puede haber necesidad de hacer un mayor énfasis sobre la prevención y control de la propagación por contacto directo a través del ambiente animado (enfermos, médicos, enfermeras, técnicos y auxiliares), que constituyen el principal foco de transmisión de la infección hospitalaria.

6.8. Muestras para la investigación bacteriológica. Requisitos

El propósito fundamental del laboratorio de microbiología médica, es el aislamiento e identificación de los microorganismos que causan enfermedad en el hombre y determinar su susceptibilidad “in vitro” a los agentes antimicrobianos.

No existe otro laboratorio en el cual las fuentes de los especímenes y sus tipos sean tan diversas y por lo tanto, sea tan importante la recolección y el transporte de las muestras.

El éxito de los procedimientos de los laboratorios de microbiología y parasitología médicas diagnósticas, dependen en gran medida del modo como se obtienen las muestras y de las condiciones en que las mismas llegan al laboratorio. En algunos lugares, se comete el grave error de dejar en las manos del personal auxiliar menos preparado, el importante proceso de obtener las muestras y transportarlas al laboratorio.

El personal del laboratorio no debe aceptar muestras inadecuadas, sin embargo, no siempre se puede determinar si la misma es adecuada o no a partir de su aspecto.

En aquellos casos que se considere que la muestra pueda ser de una dudosa utilidad o de mala calidad, debe comunicarse a la unidad de cuidados del paciente (informe verbal o escrito), indicando la naturaleza de la deficiencia y solicitando la recolección de una nueva muestra.

Hay oportunidades en que ésta no es factible y se procederá a estudiar la recibida, pero con conocimiento del médico de asistencia, de la razón por la cual no se aceptaba, con el fin de que la interpretación de los resultados sea la más adecuada.

Es muy importante que el microbiólogo transmita su actitud de preocupación por el cuidado del paciente, y que sus planteamientos no sean considerados como una restricción de la disponibilidad de los servicios del laboratorio de Microbiología, sino la intención de brindar la información más útil y reducir la posibilidad de información que pueda resultar engañosa.

Muchos malentendidos entre los médicos de asistencia y los microbiólogos pudieran minimizarse, si de antemano se acuerdan las normas de recolección y transporte de las muestras para estudio microbiano. Estas normas deben revisarse periódicamente con el personal de enfermería y médico.

Las técnicas que se utilizan para la recolección de las muestras para estudio bacteriano, dependerán de la naturaleza del problema diagnóstico y de la enfermedad en cuestión.

Para el diagnóstico de las afecciones micóticas, se pueden obtener diversas muestras, según el tipo de micosis y la región afectada. Para las micosis superficiales y subcutáneas, las muestras por lo general son partes del cuero cabelludo, de la piel y uñas. Para las micosis profundas, el material dependerá del agente que se sospeche y su localización.

Los métodos que se emplean en la obtención de muestras para estudios virológicos, no difieren mucho de los que se emplean para los estudios bacterianos. Sin embargo, es importante tener presente la inestabilidad de muchos virus cuando la temperatura excede de 4º C. Es preciso, por lo tanto, un mayor control en el mantenimiento de la temperatura durante la conservación o envío de una muestra. Para su transporte pueden utilizarse termos o neveras portátiles con hielo seco.

El diagnóstico de la mayoría de las enfermedades producidas por parásitos intestinales se realiza por medio del examen de las heces fecales, que deberán ser recogidas en recipientes limpios que permitan su fácil transporte. Las heces obtenidas del suelo

o de excusados no son satisfactorias debido al peligro de que estén contaminadas con larvas saprófitas y otros organismos del suelo o con orina que puede destruir los trofozoitos, si éstos se encontraran en la muestra.

Si las muestras se envían inmediatamente al laboratorio y pueden procesarse lo más pronto posible, no necesitan preservativos; pero si, por el contrario, se conoce que va a existir demora en el inicio del proceder analítico, deben ser conservadas en soluciones preservativas.

Otras muestras que con frecuencia se obtienen en los casos de parasitismo intestinal son:

1. Helmintos o proglótides que pueden expulsarse con materia fecal o sin ésta. Pueden colocarse en un frasco con solución salina, agua alcohol o formalina.
2. Muestra de la región perianal tomada con cinta adhesiva transparente. Importante en el diagnóstico de la oxiuriasis.
3. Muestras obtenidas por sigmoidoscopia.
4. Algunos parásitos pueden encontrarse en alguna fase de su ciclo biológico en material distinto de las heces fecales. Por ejemplo, *E. histolytica* en el hígado, mucosa intestinal u otros tejidos. (Estudio de la muestra del material correspondiente).
5. Muestras de secreción duodenal y biliar. Muy importante en el diagnóstico de *Giardia lamblia*, cuando los exámenes de las heces fecales son negativos.

Otros parásitos:

1. Para el diagnóstico de la malaria y de otros hemoparásitos resulta de importancia el examen de la sangre periférica, realizando los métodos de extensión de la muestra: gota gruesa y frotis.
2. La sangre venosa con anticoagulantes es utilizada para el examen de microfilarias.
3. Las muestras de exudados y otras secreciones que se obtienen con hisopos estériles constituyen el medio habitual para diagnosticar infecciones causadas por diversos parásitos y se obtienen de: cérvix, vagina, próstata, lesiones abiertas, úlceras, biopsias, punciones, etc.

Otras muestras:

Tanto en los diagnósticos de enfermedades bacterianas, micóticas, virales y parasitarias, no podemos olvidar la importancia de la muestra de suero sanguíneo para los estudios séricos correspondientes, buscando la presencia o un título de anticuerpos.

Para la obtención de las muestras de ambiente, agua leche y alimentos se emplearán técnicas especiales de acuerdo a la investigación solicitada. En el caso de la muestra de leche dependerá también del lugar de origen de la misma (establo, lechería, planta pasteurizadora, medios de transporte, expendios etc.). En los casos de muestras de alimentos, para el estudio de un brote de origen alimentario, es preciso descubrir el alimento infectante, el agente causal (microorganismo o toxina) y las circunstancias que dieron lugar al brote, por lo cual se determinará en cada caso, las clases de muestras que se requerirán para la determinación de la infección o de la intoxicación alimentaria.

Consideraciones generales

Entre las consideraciones generales que debemos tener presente para la selección y recolección de los especímenes, podemos señalar:

- Tener una idea clara de los objetivos para los cuales se toma la muestra: aislamiento e identificación de un agente etiológico, titulación de anticuerpos, determinación de las fuentes de contaminación del agua o alimentos, las causas de una intoxicación, etc.

La muestra debe ser representativa:

- a. La muestra se obtendrá de la región anatómica de donde pueda ser encontrado el microorganismo.
- b. Considerar el estado de la enfermedad.
- c. Las muestras para estudios de ambiente, agua, leche, y otros alimentos, se tomarán de acuerdo con el tipo de investigación solicitada, siempre representando el proceso o la situación en estudio.
- d. La cantidad de la muestra colectada será la adecuada para realizar todos los estudios solicitados.
- e. Siempre que sea posible, debemos obtener la muestra antes del inicio de la terapia antimicrobiana.
- f. En algunos tipos de muestras se utilizarán frascos con sustancias neutralizantes de los antimicrobianos que contengan los productos en estudio. Ejemplos: Cloro en el agua, antibióticos en sangre.

- g. Observar medidas, para evitar que se contamine la muestra.
- h. Instruir claramente a los pacientes.
- i. Emplear contenedores estériles y en caso necesario, el medio de transporte adecuado.
- j. Enviar las muestras rápidamente al laboratorio.
- k. Suministrar suficiente información al laboratorio.

La solicitud del examen al laboratorio de Microbiología debe suministrar toda la información que se necesita para los correctos procedimientos analíticos y para la adecuada interpretación de los resultados. Debe incluir la siguiente información:

- a. Nombre del paciente.
- b. Edad y sexo del paciente.
- c. Sala, cama o habitación, si el paciente está ingresado.
- d. Número de historia clínica u otro dato que permita identificar y localizar al paciente.
- e. Sitio anatómico específico de donde desea realizar el cultivo.
- f. Diagnóstico clínico o dato relevante de la historia clínica del paciente.
- g. Si requiere cultivos especiales.
- h. Si el paciente ha recibido algún antimicrobiano, señalarlos.
- i. En las muestras para estudio microbiano de ambiente, agua, leche y otros alimentos, la identificación debe incluir: en las muestras de agua y de leche, la naturaleza de la fuente, la localidad de donde fue obtenida y la temperatura del medio; en las muestras de alimentos se incluirán datos sobre su origen, ingredientes utilizados en la preparación, manipulación previa, conservación, temperatura de conservación y fecha y hora de preparación.
- j. Nombre y apellidos del médico que indica.
- k. Fecha y hora de la recolección.

Desdichadamente, muchos recipientes donde se depositan las muestras, llegan al laboratorio, sin etiquetas o con etiquetas que no están confeccionadas adecuadamente.

Cada muestra debe llevar una etiqueta firmemente pegada, con una leyenda clara y con impresión hecha de tal forma que no se borre durante el almacenamiento y transporte, ya que el envase puede permanecer en un ambiente húmedo que le cause deterioro.

- a. Debe contener la siguiente información:
 - Nombre y apellidos del paciente.
 - Sala, cama, habitación, número de historia clínica.
 - Médico de asistencia.
 - Fecha y hora.
 - Clase de muestra.
 - Examen que se desea.

Un aspecto muy importante relacionado con las muestras, es la definición del momento óptimo para su obtención, el cual puede estar basado en el tipo del proceso infeccioso y en la capacidad, organización y habilidad del personal del laboratorio para coleccionar las muestras.

Debido a las características de trabajo de los laboratorios, éstos, generalmente, están más capacitados para recibir las muestras durante la jornada laboral diurna, fundamentalmente en horarios de la mañana. Las muestras que necesariamente tienen que ser obtenidas en horarios avanzados de la tarde y durante la noche, y que no serán sembradas dentro de las dos horas siguientes a su obtención, podrían no producir resultados confiables si no se procede de manera adecuada durante la conservación y transporte de la muestra.

En estos casos, puede ser necesaria la utilización de un medio de transporte, pues conocemos que los microorganismos, crecen, se reproducen y mueren rápidamente. Los medios de transporte se han creado para detener o prevenir los tres procesos.

Resultados erróneos o incompletos pudieran producirse si alguno de estos procesos ocurre antes de que la muestra comience a procesarse en el laboratorio.

Se conocen bajo la denominación de “procedimientos de rutina del laboratorio”, aquellos que se hacen en forma continua mientras que el laboratorio tiene sus procedimientos establecidos en forma permanente; en este caso, lo importante será la coordinación para lograr que las muestras lleguen en forma satisfactoria y que el laboratorio tenga la capacidad para elaborarlas.

La marcha analítica de algunos especímenes no se encuentra entre los procedimientos antes señalados, debido a que requieren equipos, medios de cultivo, colorantes y otros reactivos especiales o de uso no frecuente en el laboratorio que se debía encargar del procesamiento de la muestra. En estos casos, el médico de asistencia deberá consultar con el microbiólogo, acerca de la posibilidad de realizar el examen.

Los casos que con mayor frecuencia pudieran presentarse son:

- a. Cultivos de virus.
- b. Pruebas para estudio del poder bactericida del suero.
- c. Campo oscuro para detección de espiroquetas y otras bacterias.
- d. Hemocultivos especiales para cultivar hongos y formas L.
- e. Recuperación de chlamydias, rickettsias, leptospiras y otros organismos poco frecuentes.

Se obtendrán las muestras correspondientes, y de ser posible se crearán las condiciones para realizar el estudio en el laboratorio o se realizarán las coordinaciones pertinentes para enviar la muestra al laboratorio que pueda procesarla.

Como conclusión de estas reflexiones sobre la muestra para estudio microbiano, quisiera destacar el hecho de que el médico de asistencia espera la información de los laboratorios de microbiología y parasitología médicas diagnóstica, para ayudar a salvar a su paciente; y hemos visto que es en las manos de la persona encargada de seleccionar, obtener y transportar las muestras donde se encuentra parte de esta gran responsabilidad.

6.9. Uso adecuado del recurso microbiológico en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas

El aumento de la incidencia y severidad de las enfermedades infecciosas es uno de los conflictos a enfrentar en el campo de la infectología clínica, constituyen un importante problema de Salud Pública en todas las regiones del planeta y representan un reto para el médico de asistencia, que necesita de la cooperación estrecha del microbiólogo y del epidemiólogo para un manejo y un pronóstico satisfactorio.

A pesar de los esfuerzos realizados en el mundo con el fin de yugular dichas enfermedades, éstas continúan siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad. En la actualidad, existe, además, un persistente aumento del número de pacientes con enfermedades de base o tratamientos que con frecuencia condicionan la aparición de infecciones oportunistas.

Ante la presencia de una enfermedad infecciosa, el laboratorio puede contribuir a establecer su diagnóstico mediante pruebas que podemos agrupar en cuatro categorías:

- a. Demostración del agente en muestras de los productos patológicos del paciente.
- b. Demostración de una respuesta significativa de anticuerpos en el paciente.
- c. Demostración de sensibilidad cutánea significativa (evidencia de hipersensibilidad a los antígenos de un agente infeccioso).
- d. Demostración de alteraciones en determinaciones del laboratorio clínico.

De estas pruebas, al laboratorio de microbiología le competen:

El diagnóstico del agente causal por medio de:

- a. La visualización, el aislamiento y la identificación del agente.
- b. La demostración de alguno de los antígenos del microorganismo.
- c. La detección de genes específicos del agente en muestras del paciente mediante hibridación de ADN con ADN o de ADN con ARN.
- d. La demostración de respuesta inmune.

Las pruebas de laboratorio para contribuir con la selección racional del tratamiento antimicrobiano.

Cuando el laboratorio está ubicado dentro de las instalaciones médicas generales, debe ofrecer al médico de asistencia, con rapidez y exactitud, la información referente a la presencia o ausencia de un agente microbiano, que puede estar específica o potencialmente implicado en un proceso de enfermedad infecciosa que está afectando a un paciente y, además, completar prontamente la información, con los resultados relativos a las pruebas de resistencia “in vitro” a los antimicrobianos.

Con el uso adecuado del recurso microbiológico podemos lograr:

Diagnóstico y orientación para el correcto tratamiento de pacientes individuales.

Vigilancia microbiológica a:

- **Poblaciones abiertas:** Los datos microbiológicos figuran entre los primeros que sugieren la existencia de enfermedades epidémicas en la comunidad.

- **Poblaciones cerradas:** Un número poco común de ejemplares de un solo patógeno o un cuadro poco común de susceptibilidad a los antimicrobianos puede indicar un brote de infección nosocomial.
- **Pacientes en riesgo:** Predicción de aparición de infección nosocomial (prevenibles e inevitables).

Cuando nos enfrentamos a un paciente con un cuadro clínico sugestivo de una enfermedad infecciosa; corresponde al médico de asistencia, hacer un diagnóstico presuntivo, indicar los exámenes de laboratorio e iniciar tratamiento. Él sabe cuáles son las pruebas que solicitará, cómo y cuándo tomar las muestras y cómo interpretar los resultados.

En el momento de solicitar los exámenes, debe informar al laboratorio sobre su impresión diagnóstica y los antecedentes de la terapéutica antibiótica del paciente.

Estos elementos permiten orientar el trabajo del laboratorio de Microbiología, pues es bien conocido que en el mismo no hay un solo método disponible que permita observar y aislar todos los microorganismos patógenos o diferenciarlos de los no patógenos.

Las técnicas usadas para este fin variarán según el síndrome clínico y el tipo de agente que se esté considerando: virus, bacteria, hongo u otro parásito.

Al personal del laboratorio, jerarquizado por el microbiólogo jefe, le corresponden los detalles técnicos de los diferentes procedimientos analíticos, desde las consideraciones sobre las muestras hasta suministrar la más precisa, adecuada y rápida información sobre el agente infeccioso.

El éxito de los exámenes microbiológicos depende en gran medida del modo como se obtienen las muestras, de la rapidez y de las condiciones con que las mismas llegan al laboratorio. La rotulación apropiada de las muestras es un factor importante en el uso adecuado del recurso microbiológico. (Ver folleto titulado: La muestra para estudio microbiano.).

Muchas veces los procedimientos analíticos se pueden inutilizar por falta de cuidado y por el empleo de métodos defectuosos en la recolección y manejo de las muestras. Con el fin de superar estos errores, dichos métodos deben estar normados y figurar en los manuales del laboratorio y del personal de enfermería. Debe revisarse periódicamente con participación del personal del laboratorio, de enfermería y médico.

Entre los procedimientos más importantes en la marcha analítica de una muestra para estudio microbiano, se encuentran los exámenes microscópicos de los productos patológicos frescos, teñidos o sin teñir, con el fin de demostrar la presencia de un agente infeccioso en la muestra. Frecuentemente no se emplean estos métodos y se pierde la importante información que brinda este recurso, de gran ayuda para el diagnóstico.

Algunos de los exámenes microscópicos directos no sólo nos ofrecen las ventajas antes señaladas, sino que también nos permiten predicciones de los resultados de los cultivos. Como ejemplo muy útil podemos citar, los exámenes directos en la detección de bacteriuria. El examen en campo oscuro debe realizarse a toda muestra de orina que llegue con indicación de cultivo. Estos resultados tienen un valor predictivo de cultivos negativos de 95,5% y una especificidad de 97,3%, con el consiguiente ahorro en recursos materiales y humanos.

Otro propósito importante de los laboratorios de microbiología es tratar de demostrar la presencia de un agente infeccioso mediante la preparación de cultivos bajo condiciones ambientales que sean adecuadas para el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos.

La decisión de cuántos y cuáles métodos y medios de cultivo se usarán en cada laboratorio y frente a cada caso, queda a cargo de las normas de trabajo y en gran parte, a la experiencia del director del laboratorio. Para estas definiciones, son indispensables las valoraciones sobre el tipo de población que atiende, las funciones del laboratorio y los datos que aportan los médicos de asistencia.

Uno de los pasos más decisivos en estos estudios es la observación de los primocultivos, que debe realizarse a simple vista y con ayuda de aumento, siempre con buena iluminación. Esta importante tarea debe realizarla el personal más calificado y con más experiencia, auxiliado por un miembro del equipo técnico.

Si después de la inspección de los cultivos, los microorganismos representan los normales de la región anatómica de donde se obtuvo la muestra, la identificación con pruebas adicionales, resulta superflua.

Si la muestra procediera de una región que es normalmente estéril o que la presencia del microorganismo no es normal, el laboratorio debe establecer la identificación de la cepa aislada.

En algunos casos, la identificación debe establecerse hasta género y especie, en otros, resulta suficiente conocer que se trata de un miembro de un género determinado. Si la cepa procede de un paciente en circunstancias especiales o fuera necesario

por razones epidemiológicas, higiénicas o profilácticas, es posible que se requieran más pruebas para la identificación del microorganismo, que nos permitan una caracterización más exhaustiva.

En nuestro laboratorio de Microbiología pediátrica, tenemos establecido la realización de diferentes niveles de identificación a las cepas aisladas; estando en dependencia de las características del paciente del cual procede y del tipo de muestra de la cual se obtuvo.

El personal del laboratorio no siempre tiene que reflejar las clasificaciones taxonómicas más exactas y es muy importante que conozca los diferentes sinónimos que pueden aplicarse al microorganismo que identifican.

La detección inmunoquímica de antígenos solubles en los productos patológicos se ha convertido en un examen frecuente en algunos laboratorios de Microbiología y nos brinda la posibilidad de poder detectar la presencia de los antígenos microbianos, aún en aquellas muestras donde no se han observado ni aislado los microorganismos. La sensibilidad y la sencillez técnica son ventajas de estas pruebas.

Son muy diversos los métodos que se pueden emplear para detectar los antígenos solubles y ninguno por sí sólo puede recomendarse para todos los antígenos bacterianos, sino que cada uno debe evaluarse independientemente y aplicarse como método para cada antígeno.

La inmunoanálisis de enzima (IAE) incluyendo los análisis inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA) y las pruebas de aglutinación (LA y COA), se usan para detectar antígenos de agentes infectantes (bacterias, hongos, virus, parásitos), presentes en muestras clínicas.

Las pruebas de inmunofluorescencia (IF), directas e indirectas son métodos que nos permiten identificar antígenos, se describen en otros capítulos de este libro y aparecen enunciadas en los capítulos correspondientes a diferentes microorganismos causantes de infecciones bacterianas, micóticas, virales y parasitarias.

El desarrollo y aplicación de nuevos métodos de biología molecular, que son capaces de detectar o identificar, de manera rápida y con alta sensibilidad y especificidad a microorganismos o algunas de sus características, cambian sustancialmente la práctica de los laboratorios de microbiología clínica, en su objetivo de diagnosticar infecciones.

Estos procedimientos de diagnóstico molecular tienen como principio básico, la hibridación de una sonda de ácido nucleico caracterizada, a una secuencia específica de ácido nucleico en una muestra de prueba, seguida por detección del híbrido apareado.

Otra responsabilidad importante de los laboratorios de Microbiología clínica es la realización de las pruebas que contribuyen al uso racional de los antimicrobianos, entre los que tenemos los métodos que nos permiten conocer, “in vitro”, la sensibilidad y resistencia de las cepas aisladas frente a las drogas antimicrobianas y la demostración de la producción o no, de enzimas que inactivan a dichas drogas.

Para la realización de todas estas pruebas, se seleccionarán aquellas drogas que serán útiles “in vivo” frente al microorganismo aislado, según las características de resistencia propias o naturales del grupo al que pertenece y teniendo en cuenta las características del paciente y de la región anatómica de la cual se aisló.

Con el fin de que estas pruebas de laboratorio contribuyan adecuadamente al tratamiento antimicrobiano, deben poder ofrecer la información lo más rápido posible, unido a la exactitud, reproducibilidad y buenos controles.

Otros procedimientos de laboratorio que pueden ofrecer un auxilio importante en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas, son las pruebas serológicas.

Los cultivos de ciertas bacterias, hongos, parásitos y virus pudieran no ser satisfactorios por diferentes causas: no desarrollo del método adecuado, terapia antimicrobiana previa a la toma de la muestra o cronicidad de la enfermedad. Bajo estas circunstancias, la detección de anticuerpos específicos y no específicos puede resultar una gran ayuda en el diagnóstico y en la epidemiología.

Debemos recordar que la demostración de un anticuerpo específico indica exposición efectiva (por infección o por vacunación) en algún momento, pero pudiera no tener relación con la infección actual, por lo cual es necesario ser muy cuidadoso en la indicación precisa y en la interpretación adecuada de los resultados de este recurso indirecto.

Con frecuencia es necesario demostrar un aumento en la concentración de anticuerpos en la segunda de dos muestras de sangre, obtenidas del paciente con un intervalo de tiempo determinado.

Al utilizar las pruebas serológicas como recurso de ayuda diagnóstica de las enfermedades infecciosas, debemos tener presente algunas consideraciones con relación a las mismas:

- Las pruebas varían en su sensibilidad.
- Las pruebas varían en su especificidad.
- Los antígenos varían en su inmunogenicidad.

- Los pacientes varían en su capacidad de respuesta frente a los estímulos antigénicos.

El diagnóstico serológico es pocas veces tan útil clínicamente como el aislamiento y la identificación del agente causal, pero, sin embargo, en algunos momentos, es el único recurso con que se cuenta.

Con el estímulo antigénico de un agente infeccioso, el hospedero puede presentar hipersensibilidad, que se pone de manifiesto por una reacción cutánea. El uso de pruebas que apliquen antígenos conocidos puede servir de ayuda en algunos diagnósticos. En el uso adecuado de este recurso, resultan de vital importancia: la realización correcta del proceder técnico, el uso de controles, el método de lectura y la interpretación adecuada de los resultados obtenidos.

La mayoría de los procedimientos del laboratorio de microbiología clínica, son lentos y con frecuencia el médico de asistencia utiliza el informe microbiológico como elemento que confirma o excluye su hipótesis clínica y la terapéutica empleada.

Con el avance científico técnico que se ha producido en las dos últimas décadas; se han introducido en la práctica, procedimientos técnicos, que pueden minimizar el tiempo del diagnóstico de laboratorio microbiológico, además de ser más simples y económicos. No sólo me refiero a la aplicación de los procedimientos de las técnicas moleculares aplicadas al diagnóstico microbiológico, sino también a la introducción de micrométodos, de la instrumentación y de la automatización en estos diagnósticos.

Pero no podemos olvidar que, con el empleo racional y adecuado de los procedimientos convencionales y tradicionales, se puede minimizar el tiempo de demora de los informes del laboratorio y hacerlos, por lo tanto, más útiles. En este sentido nos resultan de gran ayuda:

- La realización de las pruebas rápidas convencionales que históricamente han sido empleadas en los laboratorios de microbiología clínica (exámenes directos, detección de antígenos solubles, uso de fluorescencia, pruebas bioquímicas etc.).

Las notificaciones preliminares de los resultados con utilidad clínica, que permitirán confirmar o reevaluar una impresión diagnóstica o hacer cambios en el programa terapéutico.

La estrecha comunicación entre el médico de asistencia y el microbiólogo

Tenemos la experiencia de que al médico de asistencia puede resultarle más importante ir conociendo que un bacilo Gram negativo o un coco Gram positivo está presente en la muestra de un paciente, que esperar varios días hasta que se identifique completamente el microorganismo.

En este sentido es muy importante que el personal del laboratorio y el médico de asistencia recuerden que ocasionalmente el informe preliminar puede ser modificado. Igual conducta de notificación debemos realizar cuando detectamos la aparición de microorganismos potencialmente patógenos para la comunidad o para la instalación hospitalaria.

En este último caso la rápida comunicación no será sólo con el médico de asistencia sino también con la Comisión de Control y Prevención de la Infección Hospitalaria, cumpliéndose una de las funciones del laboratorio de Microbiología al apoyar la vigilancia, la prevención y el control de estas infecciones.

Con mucha frecuencia nos encontramos que estas funciones no se llevan a cabo adecuadamente, debido, entre otros factores, a que una gran parte de la capacidad de los laboratorios de Microbiología en el medio hospitalario está forzada por un gran número de muestras indicadas de rutina. Vemos también que, desafortunadamente, en muchos hospitales se descarga la responsabilidad del control de infecciones en una gran cantidad de muestras tomadas sin ninguna lógica y que no conducen a un objetivo definido.

Como resultado de esta mala utilización del recurso microbiológico se obtiene una gran cantidad de aislamientos sin importancia, y que a menudo no se pueden interpretar, entre los que se encuentran los relativos a los niveles de contaminación de pisos, paredes, aire y otros elementos inútiles; pero, sin embargo, a veces se tiene poco conocimiento sobre las infecciones adquiridas en el hospital.

Los procedimientos microbiológicos que tanto nos pueden ayudar, pudieran convertirse en factores distorsionantes al ser mal indicados o realizados de forma inadecuada, pues podrían demorar el reconocimiento de los brotes o llevar a inútiles investigaciones de epidemias que no existen.

Los resultados que emite el laboratorio de Microbiología no deben quedar como elementos dispersos, es necesaria la integración de los mismos a los pacientes y éstos al medio hospitalario.

Resulta indispensable para el personal del laboratorio y para los médicos que usan el recurso, conocer cuáles son las posibilidades analíticas con que cuenta, cuáles son

sus limitaciones y cuáles los laboratorios que puede recomendar o a los que puede enviar los especímenes para los estudios que no pueda realizar.

Como conclusión podemos señalar que, no basta con la indicación precisa del examen microbiológico y un correcto proceder analítico, sino que es necesaria la conjunción de las acciones del médico de asistencia y del microbiólogo, lo cual repercutirá favorablemente en los resultados de las pruebas de laboratorio, su interpretación y su aplicación en el campo de las enfermedades transmisibles, independientemente de los recursos materiales con que cuenta el laboratorio que realiza los estudios.

Además, con la introducción de nuevos procedimientos; como los micrométodos, la instrumentación, la automatización y los métodos de biología molecular y su impacto en la práctica, se han producido cambios en el diario quehacer y en los resultados obtenidos en los laboratorios de microbiología y parasitología médicas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bonifaz, A.** (2010). *Micología Médica Básica*. México D. F., México: Mc Graw Hill.
- Braunwald, E. M., Fauci, A. S., Kasper, S. D., Hauser, M. S., Longo, D. L., y J. Larry, J. M.** (2012). *Principios de Medicina Interna*. París, Francia: Mc Graw Hill.
- Broocks, G. F.** (2018). *Microbiología Médica*. México D.F., México: El manual moderno.
- Douglas, A., Skoog, F., Holler, J., y Nieman, T. A.** (2011). *Principios de análisis instrumental*. Vancouver, Canadá: Mc Graw Hill.
- Farga, V.** (2012). *Tuberculosis*. Barcelona, España: Editorial Mediterráneo.
- Feddin, J. F.** (2013). *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia*. México D.F., México: Editorial Médica Panamericana.
- Hardmen, J. G., Limbird, L. E., & Goodman, G. A.** (2013). *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Londres, Reino Unido: Mc Graw Hill.
- Kazda, J.** (2015). *The ecology of mycobacteria*. New York: Editorial Kluger Academic Publisher.
- Winn, W. Jr., Allen, S., Janda, W., Koeman, E., Procop, G., Schreckenberger, P., et al.** (2006). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 6th Edition*. Pennsylvania, EE.UU.: Lippincott Williams & Wilkins.
- Madigan, M. T.** (2015). *Brock biology of microorganisms*. Boston, EE.UU.: Pearson.
- México, A. D.** (1995). *Temas de medicina interna, tuberculosis*. México D. F., México: Mc Graw Hill.
- Murray, P. P., Rosenthal, K. S., Kobayashi, G. S., y Pfaller, M. A.** (2012). *Microbiología Médica*. Detroit, EE.UU.: Editorial Mosby.
- Prescott, G. W.** (2018). *How to know the freshwater algae*. Brown: Editorial Dubuque.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., y Klein, D. A.** (2014). *Microbiología*. Toronto, Canadá: Mc Graw Hill.
- Prescott, L., & Harley, J.** (2019). *Microbiología*. Madrid: Mc GrawHill-Interamericana.
- Roitt, I. M., & Delves, P. J.** (2013). *Inmunología Fundamentos*. México D.F., México: Editorial Panamericana.
- Rossmann, M. D., & Rob Roy, M. M.** (2016). *Tuberculosis*. México: Mc Graw Hill.

Sherris, J. C., Champoux, J. J., Reinhardt, F. C., Drew, L. C., & Plorde, J. (2014). *Microbiología Médica “una introducción a las enfermedades infecciosas”*. Miami, EE.UU.: Mc Graw Hill.

Sleigh, M. (2019). *Biología de los protozoos*. Madrid, España: Blume Ediciones.

Tortora, G. J., Funke, B. R. y Case, C. L. (2012). *Microbiology: An Introduction Plus MasteringMicrobiology*. New Jersey, EE.UU.: Edition UK. Pearson Benjamin Cummings.

Valdés-Miranda, C., Cros, Z., y Plasencia, L. (2016). *Dreamweaver*. Denver, EE.UU.: Anaya.

Medicina y Salud

